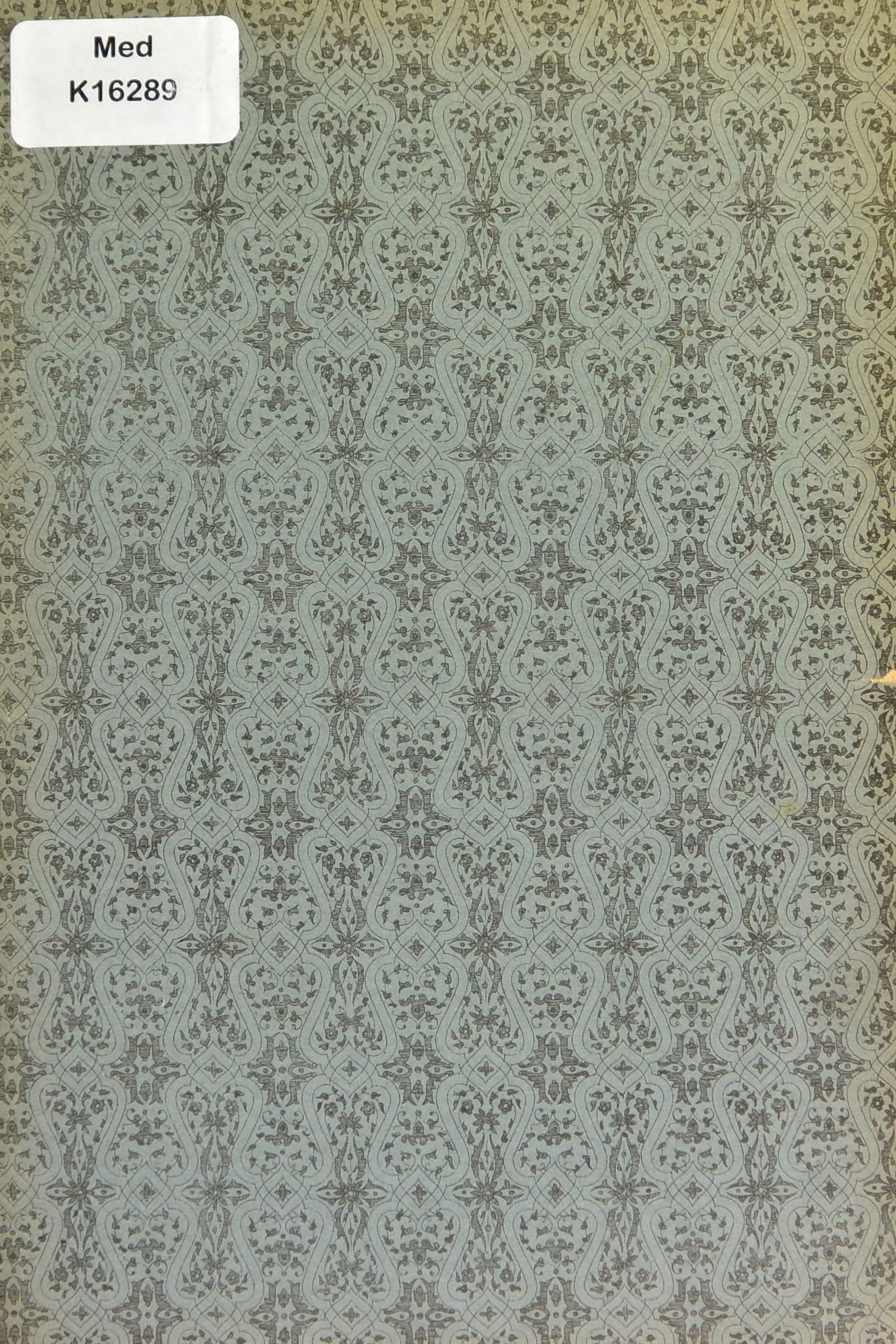
E. Macé

TRAITÉ PRATIQUE DE BACTÉRIOLOGIE




Med
K16289

~~9/-~~ 7/6

TRAITÉ PRATIQUE

DE

BACTÉRIOLOGIE

DU MÊME AUTEUR, CHEZ LES MÊMES LIBRAIRES

LES SUBSTANCES ALIMENTAIRES

ÉTUDIÉES AU MICROSCOPE
SURTOUT AU POINT DE VUE DE LEURS ALTÉRATIONS
ET DE LEURS FALSIFICATIONS

1891. Un vol. in-8, 512 pages, avec 24 planches coloriées dont 8 reproduites d'après les études sur le vin de M. L. Pasteur, et 408 figures dans le texte. Prix.......... **14** fr.

ATLAS DE MICROBIOLOGIE

1898. Un vol. gr. in-8, 60 planches d'après nature imprimées en 8 couleurs. cart. 32 fr.
Relié en maroquin souple, tête dorée.................................... 34 fr.

Sommaire des planches :

Pl. I. Bacille de la tuberculose.
II. — — —
III. — — —
IV. — du charbon.
V. — —
VI. — de la diphtérie.
VII. — —
VIII. Staphylocoque doré.
IX. Streptocoque pyogène.
X. Bacille typhique.
XI. — —
XII. Colibacille.
XIII. Pneumocoque.
XIV. Pneumobacille.
XV. Bacille de la morve.
XVI. Vibrion septique.
XVII. Bacille du tétanos.
XVIII. — du charbon symptomatique.
XIX. — pyocyanique.
XX. Bacille de la lèpre. Gonocoque. Pus de méningite cérébro-spinale.
XXI. Tétragène.
XXII. *Bacillus lactis aerogenes.*
XXIII. Choléra des poules.
XXIV. Bacille du rouget du porc. Septicémie de la souris. Pneumo-entérite du porc.
XXV. Peste. Influenza. Chancre mou. Mammites.
XXVI. *Micrococcus prodigiosus.*
XXVII. Bacille du lait bleu.
XXVIII. — violet.
XXIX. — polychrome.
XXX. *Bacillus clororaphis.*
XXXI. *Ascobacterium luteum.*
XXXII. Spirille du choléra ; cultures.

Pl. XXXIII. Spirille du choléra ; préparations microscopiques.
XXXIV. Choléra et Vibrions cholériques.
XXXV. Spirille de Finckler. Spirille de Metschnikoff. Spirille du choléra.
XXXVI. *Cladothrix chromogenes.*
XXXVII. Cladothrix divers.
XXXVIII. Actinomyces.
XXXIX. Pied de Madura. Farcin du bœuf.
XL. Cladothrix divers. Farcin du bœuf. *Actinomyces.*
XLI. *Proteus vulgaris.*
XLII. *Bacillus Zopfii.*
XLIII. *Bacillus mycoides.*
XLIV. *Bacillus megaterium.*
XLV. *Bacillus subtilis.*
XLVI. *Bacillus mesentericus ruber.*
XLVII. Bacille fluorescent liquéfiant.
XLVIII. Bacille fluorescent non liquéfiant.
XLIX. Bacille de la septicémie gangreneuse de la grenouille.
L. *Bacillus rosaceus metalloides.*
LI. Bacille bleu de l'eau.
LII. Spirilles. — Leptothrix. — Sarcine.
LIII. Pourriture d'hôpital. — Fièvre jaune. — Pelade.
LIV. Pseudo-tuberculoses.
LV. Phagocytose et Inclusions cellulaires.
LVI. Bactéries diverses de l'eau. Cultures sur plaques.
LVII. Ferments acétiques.
LVIII. Muguet. — Levures.
LIX. Hématozoaires.
LX. Coccidies.

7272-99. — Corbeil. Imprimerie Éd. Crété.

TRAITÉ PRATIQUE

DE

BACTÉRIOLOGIE

PAR

E. MACÉ

PROFESSEUR D'HYGIÈNE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DIRECTEUR DE L'INSTITUT SÉROTHÉRAPIQUE DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

QUATRIÈME ÉDITION

MISE AU COURANT DES TRAVAUX LES PLUS RÉCENTS

Avec 338 figures dans le texte, noires et coloriées



PARIS

LIBRAIRIE J.-B. BAILLIÈRE ET FILS

19, rue Hautefeuille, près du boulevard Saint-Germain

1901

PRÉFACE

Je publie aujourd'hui, avec des développements nouveaux, la quatrième édition du Traité pratique de Bactériologie, paru une première fois en 1888, et auquel la bienveillance de mes lecteurs a valu un accueil qui m'a véritablement touché. Je me suis appliqué, encore cette fois, à le tenir au courant des travaux les plus récents en même temps que j'y apportais le résultat de mes recherches nouvelles.

Les notions mises en lumière depuis bientôt un demi-siècle, par les travaux de Pasteur sur les Microbes, ont conduit à des idées toutes nouvelles sur le rôle que jouent dans le monde ces êtres inférieurs et, en particulier, sur la place importante qui doit leur être réservée dans l'étude de la médecine.

Certes, ils sont intéressants et utiles les phénomènes de décomposition, de fermentation et de putréfaction que certains de ces êtres provoquent journellement sous nos yeux, en accomplissant, dans l'équilibre de la vie dans le monde, un rôle si important, et dont l'homme, pour certains d'entre eux, a su tirer si grand profit; mais combien plus importants encore sont les changements profonds que peut produire dans l'économie la présence d'autres organismes très voisins des premiers. C'est tout un chapitre nouveau qu'il a fallu ajouter à l'étiologie et à la pathologie des maladies infectieuses.

En présence de théories aussi nouvelles, il est bien permis d'hésiter. La médecine a été bouleversée par tant de systèmes, qui ont disparu faute de bases assez solides, qu'il est toujours sage de pratiquer le doute scientifique dans ces conditions. Il faut bien certainement se garder d'un enthousiasme excessif, mais plus encore d'un scepticisme poussé trop loin, et aborder ces études en prenant pour guide, ici surtout, les principes si féconds de la méthode expérimentale, « ce raisonnement à l'aide duquel nous soumettons méthodiquement nos idées à l'expérience des faits (1) ».

(1) Cl. Bernard, *Introduction à l'étude de la médecine expérimentale*, p. 7.

L'importance de l'étude des Microbes s'affirme tous les jours. Pour la médecine, en particulier, elle a largement contribué à éclairer l'étiologie si obscure d'affections redoutables, et permis de poser des conclusions hygiéniques dont on a pu déjà apprécier la grande valeur pratique; les méthodes de vaccination et de sérothérapie ont déjà donné des résultats positifs précieux. Aussi doit-on s'applaudir d'en voir l'enseignement gagner du terrain et prendre sa place officielle dans les programmes de toutes nos Facultés de médecine.

Il est, dès lors, d'un grand intérêt de vulgariser le plus possible les méthodes bactériologiques. Aussi avons-nous cru faire œuvre utile en publiant ce livre, que nous nous sommes efforcé de rendre clair et pratique. Rien n'a été négligé pour atteindre ce but. Un grand nombre de détails ont été donnés d'après nature; bien des chapitres ont été rédigés au laboratoire même.

Le plan du livre était tout naturellement tracé. Avant d'aborder la partie descriptive, il est très utile de s'y préparer.

Il eût été difficile de faire l'histoire des Bactéries actuellement connues sans exposer avec quelques détails les caractères généraux de ces êtres inférieurs, sans préciser ce que l'on sait aujourd'hui de leur morphologie et de leur biologie.

C'est ce qui est fait dans une Première partie, en choisissant de préférence les exemples parmi les espèces intéressantes au point de vue médical ou faciles à se procurer.

Les procédés divers, qui conduisent à l'isolation et à la culture des Bactéries, ainsi que les méthodes spéciales d'examen microscopique, ont été l'objet de soins tout spéciaux. C'est en effet le côté le plus important de ces études, qui nécessite une pratique de quelque durée. L'exposition et la critique forment tout naturellement une Deuxième partie.

La description des espèces, qui forme la Troisième partie, tient ici une grande place. Pour un tel ouvrage, il est certainement préférable de parler de beaucoup des espèces suffisamment décrites jusqu'ici, en citer même certaines mal connues pour être complet. On reconnaîtra bien vite à la pratique que le reproche qui pourrait en être fait ne serait pas fondé; l'utilité de tous les détails apparaît clairement lorsqu'on se trouve aux prises avec une difficulté à résoudre. C'est du reste nécessaire pour l'étude des cas complexes. Cependant, le nombre des espèces nouvelles décrites dans ces dernières années devient si considérable, qu'il est néces-

saire de se limiter et d'attendre confirmation des données énoncées. Les espèces pathogènes ont été l'objet d'une étude détaillée; leurs caractères ont été approfondis, le mode d'action dans l'organisme, leur préparation, leur culture et leur examen indiqués avec soin. Des tableaux récapitulatifs ont été mis à la suite des genres les plus riches en espèces, permettant ainsi une détermination plus rapide et plus facile.

Une Quatrième partie comprend l'étude bactériologique de quelques cas spéciaux du plus haut intérêt, l'air, l'eau, le sol, le corps humain, à l'état normal et pathologique. Pour cette dernière question, en particulier, un *Sommaire de Bactériologie clinique* (p. 1152) sera pour le médecin un guide commode à consulter.

Dans le temps écoulé depuis l'époque de la première édition de ce livre, les progrès faits dans cette science, créée par notre illustre maître Pasteur, ont été considérables. Aussi, bien que pour les éditions ultérieures rien n'ait été modifié dans la disposition générale de l'ouvrage, il a fallu faire de nombreuses additions nécessitées par les découvertes nouvelles. Les additions portent un peu sur toutes les parties du livre. Il fallait naturellement indiquer les nouvelles méthodes d'observation et les perfectionnements d'anciennes; donner une large place à l'étude de ces curieuses substances que produisent les Bactéries dans les milieux où elles vivent, bouillons de culture ou organismes vivants, et à l'application de certaines d'entre elles à la thérapeutique humaine ou animale ; étudier enfin un nombre respectable d'espèces décrites par les chercheurs de tous pays qui s'adonnent avec tant d'ardeur à cette science. Ceci a été fait en s'efforçant de conserver le caractère pratique qui a attiré au *Traité de Bactériologie* des appréciations si flatteuses.

Ces raisons suffisent amplement, il semble, pour justifier l'extension qu'a prise ce livre, que l'auteur aurait préféré plutôt rendre plus court en condensant certaines parties. Il a dû forcément l'augmenter pour rester clair, pensant qu'un tel exposé doit être avant tout complet pour être facile à comprendre et fructueux pour l'étude.

Dans la détermination et l'étude des espèces, des types principaux surtout, de bonnes figures sont d'un très grand secours.

Aussi, comme véritable complément de ce livre, aidé par l'intelligente initiative de nos sympathiques éditeurs, avons-nous publié un *Atlas de Microbiologie* de soixante planches reproduites en couleurs et en phototypie, représentant les principales espèces microbiennes qui peuvent intéresser. La plus large part y est réservée aux Bactéries, surtout aux Bactéries pathogènes, comme il est facile de s'en rendre compte dans le sommaire des planches exposé ci-contre au titre du livre.

E. MACÉ.

Institut sérothérapique de l'Université de Nancy.
Juillet 1900.

TRAITÉ PRATIQUE

DE

BACTÉRIOLOGIE

INTRODUCTION

1. Historique.

La connaissance des êtres microscopiques a naturellement marché de pair avec l'invention des systèmes optiques grossissants destinés à les rendre visibles. Aussi, si la croyance que l'air et l'eau fourmillent d'êtres de petite taille se retrouve souvent dans la doctrine des anciens, elle ne pouvait s'affirmer et passer dans le domaine de l'observation et de l'expérience qu'à partir du moment où des combinaisons de lentilles assez perfectionnées permirent d'étudier *de visu* ces petits êtres.

C'est le naturaliste hollandais Leeuwenhoeck 1632-1723) (1), de Delft, qui, au grand étonnement du monde savant de son époque, démontra l'existence d'organismes vivants dont la petitesse avait défié jusqu'alors la sagacité des curieux de la nature. Il usait pour les observer de petites lentilles simples, biconvexes, fixées dans une monture d'argent. Pour déterminer leur grandeur, il les comparait à un grain de poussière de un quart de millimètre, en examinant les deux objets avec la même lentille. Malgré l'imperfection si grande de ses procédés d'observation, il a reconnu et décrit sommairement plusieurs espèces de Bactéries et a laissé entrevoir le grand rôle que ces êtres pouvaient jouer dans les phénomènes de putréfaction et de décomposition. Il en a signalé la présence dans l'eau, les infusions végétales, dans l'intestin des mouches, des grenouilles, du poulet, dans les matières intestinales de l'homme, où il a fort bien reconnu leur augmentation très notable dans les cas de diarrhée, premier appoint à la pathologie humaine, dans le tartre dentaire et dans la salive. Il a décrit des formes en bâtonnets, en longs filaments droits ou courbés, en tire-bouchon ; plusieurs lui ont montré des mouvements très manifestes. C'était beaucoup pour le temps et surtout les moyens d'investigation si imparfaits dont disposait Leeuwenhoeck ; aussi ne sait-on vraiment ce qu'on doit le plus admirer, de la nouveauté et de la netteté des résultats annoncés ou de l'habileté de l'expérimentateur.

Après Leeuwenhoeck, l'étude de ces êtres inférieurs fut délaissée,

(1) Leeuwenhoeck, Arcana naturæ detecta. Lugduni Batavorum, 1680.

l'emploi du microscope simple n'en permettant que fort difficilement l'observation. La découverte du microscope composé fit faire un grand pas à cette partie de la science de la nature.

Otto Frédéric Müller (1) l'appliqua le premier à la connaissance des êtres inférieurs et le fit servir à leur description et à leur classification. Il réussit, et ceci à sa grande gloire, à mettre un ordre relatif dans ce fouillis d'êtres microscopiques, que le grand Linné lui-même avait cru devoir laisser de côté et pour lesquels il avait créé son genre *Chaos*, véritable *caput mortuum*, où se trouvaient réunis des êtres et des choses bien dissemblables, avouant ainsi très simplement son ignorance en cette partie.

Müller répartissait les Bactéries dans les deux genres *Monas* et *Vibrio*, dont les dénominations subsistent encore. Les espèces du genre *Monas*, incomplètement décrites et mal figurées, sont peu reconnaissables; deux de ces espèces, sur dix qu'il renferme, sont bien certainement de courtes Bactéries en bâtonnets. Dans le genre *Vibrio*, il décrit trente et une espèces, dont six seulement sont des Bactéries véritables. On trouve réunis là des Algues Diatomées et Desmidiées (son *Vibrio lunula* est un *Closterium*), des Infusoires Flagellés (son *Vibrio acus* est un Euglénien), des Infusoires Ciliés (des Paraméciens) et des Nématodes (Anguillules).

Lamarck (2), Bruguière (3) et Bory de Saint-Vincent (4) se bornèrent à reproduire, intactes ou peu modifiées, les données du naturaliste danois qui firent ainsi loi pendant près d'un demi-siècle.

Ehrenberg, usant d'instruments perfectionnés, fit faire de grands progrès à l'étude des êtres microscopiques. On trouve dans son grand ouvrage, *Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen* (Berlin 1833), des résultats bien supérieurs à ceux énoncés par ses devanciers. Il sépare les êtres qui nous occupent de ceux bien différents qui en avaient été rapprochés, et les réunit dans sa famille des *Vibrionia* qu'il caractérise de la façon suivante : « Animaux filiformes, sans intestin, nus, sans organes externes, réunis en chaînes ou séries filiformes par l'effet d'une division spontanée incomplète. » Cette famille comprenait les quatre genres suivants :

Bacterium : Bâtonnets rigides à mouvement vacillant.

Vibrio : Corps filiforme, susceptible de mouvements ondulatoires comme un serpent.

Spirillum : Corps filiforme, en hélice inflexible.

Spirochæte : Corps en hélice, formant un long cordon flexible.

Dujardin (5) reprend, en les modifiant peu, les idées d'Ehrenberg. Il donne des détails nouveaux et intéressants sur le développement des Bactéries dans diverses infusions et sur la manière de les obtenir et de les étudier. Des quatre genres d'Ehrenberg, il n'en garde que trois, en réunissant le genre *Spirochæte* au genre *Spirillum*, fusion qui a été

(1) OTTO FR. MULLER, Vermium terrestrium et fluviatilium Historia, 1774, et Animalcula infusoria fluviatilia et marina, 1786.

(2) LAMARCK, Histoire des animaux sans vertèbres. Paris, 1815-1819, et 2e édition par Deshayes et Milne-Edwards. Paris, J.-B. Baillière, 1835-1845.

(3) BRUGUIÈRE, Encyclopédie méthodique. Paris, 1824.

(4) BORY DE SAINT-VINCENT, Encyclopédie méthodique. Paris, 1824.

(5) F. DUJARDIN, Histoire naturelle des Zoophytes, Infusoires. Suites à Buffon. Paris, 1841.

approuvée depuis par bien des observateurs, les caractères distinctifs de ces deux genres n'ayant qu'une valeur relative d'ordre par trop secondaire.

Les résultats obtenus à cette époque étaient sérieux et pour beaucoup à conserver; certains d'entre eux ont été bien des fois confirmés et se retrouvent encore dans les meilleurs travaux actuels. Le microscope achromatique se perfectionnait de jour en jour et permettait alors, surtout entre les mains d'observateurs expérimentés comme Dujardin, d'énoncer des conclusions que l'on pouvait considérer comme fortement appuyées, sinon tout à fait certaines.

Jusqu'alors, l'apparition de ces êtres si simples, de ces *animalcules*, comme on disait à l'époque, dans les infusions, était regardée comme un simple phénomène fortuit. On observait en même temps des altérations très appréciables des milieux en question, mais on était loin de supposer qu'il y avait entre ces deux ordres de faits des rapports si étroits, des rapports de cause à effet. Si même on cherchait à rapprocher l'une de l'autre ces deux manifestations d'un même phénomène, c'était pour faire dépendre la seconde de la première, se faisant ainsi une loi de l'ancien adage : *Corruptio unius*, *generatio alterius*. Et si Leeuwenhoeck avait constaté l'augmentation considérable des êtres microscopiques des selles dans les cas de diarrhée, si bien des savants, Linné entre autres, étaient portés, par de simples vues de l'esprit, il faut dire, à considérer ces Vibrions comme des éléments de contage dans plusieurs états pathologiques, rien de positif n'avait été avancé, aucun fait ne venait étayer ces suppositions toutes gratuites.

Les esprits étaient si peu tournés de ce côté que Davaine et Rayer (1), en 1850, signalent, tout simplement comme un fait curieux et sans y attacher grande importance, la présence d'une Bactérie en bâtonnets dans le sang des animaux morts de la curieuse maladie appelée *sang de rate*.

Déjà cependant, dès 1831, Braconnot, remarquant que certaines substances, telles que le chlore, l'acide sulfureux, l'acide nitrique, employées comme destructeurs des agents, tout à fait inconnus alors, des maladies contagieuses, possédaient aussi des propriétés antifermentescibles énergiques, concluait au rapprochement de la contagion et de la fermentation. Dans le même ordre d'idées, Cagniard-Latour (2), étudiant la fermentation vineuse, proclamait qu'elle n'était qu'une conséquence de la végétation et de la vie des globules de levure que l'on observait toujours dans le liquide sucré qui se transformait.

Arrive la période actuelle. C'est à Pasteur que revient le grand honneur d'avoir établi avec certitude les connexités étroites ou les rapports de causalité qui unissent les altérations de certains liquides, certaines fermentations, au développement et à la vie dans leur intérieur, d'êtres vivants des plus simples, de Bactéries. C'est dans son travail sur la fermentation lactique qu'il a posé les premières bases certaines de l'étude physiologique de ces êtres (3). Ce qu'il avait démontré pour cette fermentation, il l'étendit à d'autres et arriva à en former cette

(1) Rayer, Inoculation du sang de rate (*Mém. de la Soc. de Biol.* 1850, p. 141).

(2) Cagniard-Latour, Mémoire sur la fermentation vineuse (*Ann. de chim. et de phys.*, 2e série, XXVIII, 1828).

(3) Pasteur, Mémoire sur la fermentation appelée lactique (*Ann. de chim. et de phys.*, 3e série, LII, p. 404).

suite d'études qui constitue une des plus belles gloires scientifiques de notre pays.

Guidé par les principes que Pasteur posait en maître, Davaine reprit les observations qu'il avait faites quelques années avant, avec Rayer, sur le sang de rate, et parvint à établir, par des séries d'expériences et une suite de déductions habiles (1), que la maladie reconnaissait bien certainement pour cause les Bactéries que l'on trouve en grande abondance dans le sang des moutons morts ou malades.

Pasteur avait créé la physiologie des Bactéries ; Davaine venait ainsi de fonder la pathologie bactérienne.

Pasteur (2) bientôt montre la voie à suivre, en élucidant dans tous leurs détails deux terribles maladies des vers à soie, la ruine des éleveurs, la *pébrine*, causée par des microorganismes de la classe des Sporozoaires, et la *flacherie*, d'origine manifestement bactérienne. Ce sont les premières études complètes d'une affection *contagieuse* ; on y puise encore aujourd'hui de remarquables enseignements, on en tire de lumineuses conclusions relatives à l'étude de maladies reconnues depuis de même origine, où se trouvent aussi en présence ces mêmes questions de contagion, de réceptivité, de milieu, d'hérédité, qui jouent un si grand rôle dans l'étiologie et la pathogénie des maladies infectieuses.

Coze et Feltz (3), peu après, montraient que les profonds changements du sang, dans les maladies infectieuses humaines, étaient dus aussi à des Bactéries, et donnaient une étude magistrale d'une de ces affections les plus terribles, la *septicémie*.

Les plus belles applications de ces idées fécondes se trouvent sans contredit dans les recherches sur la *maladie charbonneuse*, où des maîtres tels que Pasteur et Koch ont mis tout leur savoir et sont arrivés à faire de l'étude de cette maladie « la base de la doctrine parasitaire des maladies contagieuses (4) ».

Les progrès de cette science ont été si rapides qu'il serait très long et difficile d'en donner une histoire tant soit peu complète. Autour de chacun des deux grands noms que nous venons de citer, il s'est formé une véritable école d'où est issue une pléiade de travailleurs assidus ; beaucoup ont conquis dans la science une illustration méritée : leur nom se rencontrera en bien des pages de ce livre.

2. De la place des Bactéries parmi les êtres vivants.

Pour les premiers observateurs cités, Müller, Ehrenberg, Dujardin, les Bactéries faisaient, sans aucun doute, partie du règne animal ; la motilité bien évidente des quelques espèces connues et décrites était, à leurs yeux, un caractère qui devait forcément manquer à la plante. Plus tard, lorsque Davaine eut prouvé, en étudiant la Bactérie du charbon, l'immobilité absolue de certaines espèces dans tout le cycle de leur existence, espèces qui, sans conteste, ne pouvaient en rien d'autre être distinguées des voisines, et que la motilité ne paraissait plus être le propre

(1) Davaine, Recherches sur le sang de rate (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1863 et 1864). Réimprimé dans « l'Œuvre de Davaine ». Paris, J.-B. Baillière, 1889, 1 vol. in-8.

(2) Pasteur, Études sur la maladie des vers à soie. Paris, Gauthier-Villars, 1869.

(3) Coze et Feltz, Recherches cliniques sur les maladies infectieuses. Paris, J.-B. Baillière, 1872.

(4) Straus, Le charbon des animaux et de l'homme. Paris, 1887.

de l'animal, les idées changèrent. Davaine (1) en fait des Algues voisines des *Oscillaires*, auxquelles les rattachent les *Beggiatoa* ou *Sulfuraires*. Rabenhorst (2) partage cette opinion et les classe dans sa tribu des *Oscillariées*.

Depuis lors, la plupart des naturalistes sont unanimes à les placer à la base du règne végétal. Cependant, ici surtout, aucun des caractères que l'on peut donner comme raison ne doit être considéré comme critérium d'une valeur absolue : il faut plutôt s'appuyer sur un ensemble de faits, sur une impression générale, que sur telle ou telle particularité semblant trop exclusive à une étude peu approfondie.

Hæckel (3) range les Bactéries parmi ses *Protistes*, à côté des *Monères*; Pasteur les a longtemps regardées comme des *Infusoires*, à l'exemple des premiers observateurs cités.

Cette dernière opinion paraît toutefois recevoir confirmation de récentes recherches sur la structure intime des éléments cellulaires des Bactéries. Les travaux de de Bary (4), Balbiani (5), Künstler (6), Bütschli (7), ont conduit ces observateurs à rapprocher les Bactéries des Flagellés. Il faut reconnaître que les raisons qu'ils mettent en avant sont excellentes.

Les uns, Van Tieghem (8) entre autres, les classent dans les Algues à côté des *Oscillariées* et des *Nostoccacées*, où elles forment une série parallèle dépourvue de chlorophylle. Un des grands arguments, qui sert à étayer cette combinaison, est la présence, chez quelques espèces de Bactéries, de pigment vert qu'on a hâtivement et sans preuves rapproché de la chlorophylle, et les rapports que présentent avec certaines Algues quelques espèces tout à fait aberrantes qui sont probablement à séparer du groupe.

Il est peut-être plus rationnel, avec Naegeli, de Bary, Cohn, etc., d'en faire des Champignons. Ils se rattachent à ces végétaux par le manque de chlorophylle et par toute une série de propriétés biologiques. Les fermentations les rapprochent des *Saccharomycètes* dont les éloigne toutefois leur genre de reproduction végétative, les Levures se multipliant par bourgeonnement et les Bactéries par division. C'est cette dernière particularité qui leur a fait donner par Naegeli le nom de *Schizomycètes* (σχίζειν, diviser; μύκης, champignon), et par Cohn, celui de *Schizophytes* (σχίζειν, diviser; φυτόν, plante).

Quoi qu'il en soit, quelle que soit la place que l'on veuille assigner au groupe des Bactéries, il est de toute nécessité de fixer son étendue et de préciser ses caractères. Aussi le nom de *Bactéries*, proposé par Cohn, en 1872, semble-t-il à préférer aux autres, en particulier à des

(1) Davaine, Recherches sur les Vibrioniens (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1864). Voy. aussi « l'Œuvre de Davaine ».
(2) Rabenhorst, Flora europæa Algarum, 1865.
(3) Hæckel, Le règne des Protistes, traduit par J. Soury. Paris, 1879.
(4) De Bary, Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bacterien. Leipzig, 1884.
(5) Balbiani, *Journ. de micr.*, 1886 et suiv.
(6) Kuntsler, De la position systématique des Bactériacées (*Journ. de micr.*, 1885).
(7) Butschli, Ueber den Bau der Bacterien und verwandter Organismen. Leipzig, 1890.
(8) Van Tieghem, Traité de botanique, p. 1109.

dénominations beaucoup plus vagues, englobant des êtres tout à fait dissemblables. Le rôle de ces espèces est en effet trop spécial, leur constitution assez différente, pour les laisser confondues avec d'autres êtres inférieurs.

Le nom de *Microbes*, proposé par Sédillot en 1878, convient, en même temps qu'aux Bactéries, à des Levures, des Moisissures, à des animaux inférieurs, Infusoires ou autres ; il en est de même du terme *Microorganismes*. L'histoire de chacun de ces groupes d'êtres est assez compliquée pour qu'elle gagne en certitude et en clarté à être séparée de celle de ses voisins. Il faut cependant convenir que des désignations générales, comme celle de *Microbes*, de *Microbiologie*, de *Microbie*, sont à conserver et souvent précieuses à employer, surtout lorsqu'on a en vue des êtres parfois très dissemblables systématiquement, mais que rapprochent leurs propriétés biologiques.

Si l'on mesurait l'importance de certains êtres à leurs dimensions, il est certain que les nôtres tiendraient un rang bien infime dans la série des organismes vivants. On arriverait à un même résultat en mettant en ligne la constitution de leur corps cellulaire. Si au contraire on s'attache aux actes biologiques qui nous frappent, on arrive à leur reconnaître une importance de tout premier ordre, quand on voit quelle est la diversité des réactions vitales qui nous sont manifestées, quelle est la dispersion étonnante de beaucoup de ces espèces et de quels phénomènes, en apparence secondaires, beaucoup d'entre elles viennent compliquer les actes vitaux que nous considérons comme normaux. On en sera convaincu lorsqu'on connaîtra plus loin le rôle immense que les Bactéries jouent dans le monde organique vivant ou mort.

3. Origine des Bactéries.

L'apparition rapide des Bactéries dans les liquides nutritifs purs en apparence, effet de la grande dispersion de ces êtres, a été une des principales objections des partisans de la *génération spontanée*. Perdant pied à pied du terrain au fur et à mesure que l'observation et l'expérimentation prenaient place dans les sciences, cette doctrine eut comme un renouveau lors de la découverte du microscope et des infiniment petits dont il révélait la présence. Redi venait de prouver l'inanité de cette théorie qui faisait naître directement des matières corrompues les Insectes et les Vers intestinaux (1) et avait ainsi apporté une preuve éclatante à la fameuse loi de la génération : *Omne vivum ex ovo*, émise peu de temps avant par Harvey, qui devait se confirmer plus tard pour tous les êtres. Battus sur ce terrain, les hétérogénistes descendirent de plusieurs degrés dans la série des êtres vivants ; ils se retranchèrent derrière les phénomènes si obscurs encore de la génération de ces *animaux microscopiques*, et là se crurent, en toute bonne foi, parfaitement inexpugnables.

Pour eux, les matières albuminoïdes des infusions, qui provenaient de la décomposition d'êtres vivants, conserveraient un restant de force vitale qui leur permettrait de s'organiser à nouveau lorsque des conditions extérieures favorables se présenteraient. Ces conditions étaient surtout, on le sait, la chaleur, l'humidité, l'air.

(1) Redi, Esperienze intorno alla generazione degli insetti. Firenze, 1688.

C'était, pendant la dernière moitié du XVIIIe siècle, la théorie du savant anatomiste hollandais Needham (1), admise et tant prônée par Buffon qui y trouvait un appui pour sa théorie des *molécules organiques*, et critiquée point à point avec succès par Spallanzani, dans des débats restés mémorables (2). Ce fut, à notre époque, celle de Pouchet, Joly, Trécul, savants de haut mérite, auxquels Pasteur répondit si victorieusement.

Pour Pouchet (3), la *pellicule proligère*, que l'on voit rapidement se former à la surface des infusions organiques exposées à l'air, était le lieu où les germes se formaient de toutes pièces, « comme les germes dans le stroma de l'ovaire des vertébrés ». D'où seraient venus du reste les êtres qu'il observait dans ses infusions, puisque, selon lui, l'air n'en renfermait qu'exceptionnellement les germes?

On trouvera dans les *Comptes rendus de l'Académie des sciences* et dans les *Bulletins de l'Académie de médecine*, depuis l'année 1863, la série des débats passionnés qu'a soulevés cette question de la *génération spontanée*, et l'exposé des remarquables expériences sur lesquelles Pasteur s'est basé pour la réfuter en toute assurance. De ces expériences (4), qui sont, on peut le dire, le point de départ d'une science nouvelle, le Maître a tiré les conclusions suivantes qui mettent à néant les assertions multiples des hétérogénistes :

1° Un liquide stérilisé placé à l'abri des impuretés atmosphériques ne présente jamais de ces Bactéries ;

2° Les poussières seules de l'air provoquent l'éclosion de ces Bactéries ;

3° L'air débarrassé de ces corpuscules est impropre à féconder les infusions.

On verra les importants résultats théoriques et pratiques qu'a donnés l'application de ces principes.

La doctrine de la spontanéité, vieille de près de deux mille ans, puisqu'on la trouve clairement exposée dans Lucrèce (5), peut, dès lors, être considérée comme une illusion, dans l'état actuel des choses au moins, et les débats clos par ces paroles de Pasteur : « J'ai cherché pendant vingt ans la génération spontanée, ma conclusion a été que cette doctrine est chimérique. » (*Bulletin de l'Académie de médecine*, 16 juillet 1878.)

Il reste à citer, pour mémoire, la théorie des *Microzymas* de Béchamp. C'est le nom que ce savant chimiste donne aux granulations amorphes de toutes sortes, protéiques, amylacées, grasses, qui se remarquent, en très grande abondance souvent, dans tout protoplasma, animal ou végétal. Pour lui (6), ces *Microzymas* (μικρός, petit; ζύμη, levain, ferment)

(1) Needham, Découvertes faites avec le microscope. Leyde, 1747.

(2) Spallanzani, Opuscules de physique animale et végétale, traduit de l'italien par Jean Sennebier. Paris, 1777.

(3) Pouchet, Hétérogénie ou Traité de la génération spontanée. Paris, J.-B. Baillière, 1850.

(4) Pasteur, Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère, examen de la doctrine des générations spontanées (*Ann. des sc. nat. Zool.*, 4° série, t. XVI, 1861, et *Ann. de chim. et de phys.*, 1862).

(5) Lucrèce, De natura rerum, lib. V.

(6) Béchamp, Les Microzymas dans leurs rapports avec l'hétérogénie, l'histogénie, la physiologie et la pathologie. Paris, J.-B. Baillière, 1883.

sont « la forme vivante, réduite à sa plus simple expression, ayant la vie en soi, sans laquelle la vie ne se manifeste nulle part ». « C'est l'unité vitale irréductible, physiologiquement indestructible, dont la cellule même est formée. » Après la mort de la cellule, ces organites s'épandent au dehors et donnent naissance, immédiatement ou longtemps après, à des formes vitales plus élevées, à des Bactéries. Les *Microzymas* sont répandus partout, n'attendent pour évoluer que des conditions favorables, ce qui explique la rapide apparition d'êtres inférieurs dans les liquides nutritifs abandonnés à l'air. Ils présentent une résistance énorme aux agents de destruction ; le temps lui-même, ce grand facteur du transformisme, n'a guère de prise sur eux, puisque l'auteur de la théorie en a trouvé abondamment dans le sein de dépôts de craie et au milieu de roches calcaires, enfermés là dès l'époque secondaire et attendant depuis des milliers de siècles les conditions nécessaires pour donner des Bactéries. Cette découverte des *Microzymas géologiques* (1) fait juger de suite la théorie.

Il semble bien prouvé aujourd'hui qu'on n'observe d'apparition de Bactéries, et en général d'aucun être vivant, dans des milieux nutritifs, liquides ou solides, que lorsqu'un individu d'une espèce, soit de la forme végétative ordinaire, soit de forme spéciale modifiée en vue d'une résistance plus grande aux agents nuisibles de la vie de l'espèce, la spore, arrive dans ce milieu, où il trouve des conditions favorables à sa multiplication. La petitesse, le nombre immense, l'aire de dispersion si étendue de ces êtres, expliquent leur apparition rapide dans les expériences, où l'on ne s'est pas mis très rigoureusement à l'abri de l'invasion. C'est ce qui explique les résultats erronés des hétérogénistes; c'est aussi la raison des expériences concluantes de Pasteur.

On sait, en effet, que l'on rencontre partout de ces *germes*. Non seulement ils abondent dans l'air, dans l'eau, dans le sol, mais ils pullulent sur nous et autour de nous, dans tous les coins de nos demeures, sur nos habits, à la surface du corps et même normalement dans toutes les cavités naturelles du corps en libre contact avec l'air extérieur. Cette excessive dispersion est la cause de la difficulté que l'on a d'obtenir des milieux nutritifs qui en soient absolument dépourvus.

Beaucoup n'attendent, sur place, pour se multiplier et porter atteinte au fonctionnement de la machine animale, que des circonstances favorables à leur vie, circonstances qui varient suivant chaque espèce et suivant la nature physique ou biologique du milieu. Ce sont les espèces dites *pathogènes*. Lorsqu'elles sont introduites dans l'organisme, elles se développent à ses dépens, comme dans un simple milieu nutritif. Il se produit alors une véritable lutte pour la vie entre les cellules de l'être vivant et ces éléments étrangers qui cherchent à vivre en parasites. Si l'organisme réussit dans son effort pour éliminer les Bactéries, la guérison survient ; s'il se laisse envahir, il succombe.

Les espèces de ce groupe semblent avoir traversé sans varier les longues périodes qui séparent l'époque actuelle des temps anciens.

(1) Béchamp, Sur les Microzymas géologiques de diverses origines (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1870, t. LXX, p. 914.

Miller (1) a pu reconnaître des filaments bien nets de *Leptothrix buccalis* dans le tartre dentaire des momies égyptiennes, Van Tieghem (2) retrouver la *Bactérie de la fermentation butyrique*, avec ses formes particulières, dans des minces coupes de bois silicifiés du terrain houiller de Saint-Étienne.

Les recherches suivies de Renault (3) démontrent d'une façon indubitable la présence fréquente de Bactéries dans les différentes couches géologiques fossillifères, en rapport intime avec les restes de plantes et d'animaux que l'on y rencontre. Ces Bactéries, par leurs rapports que l'on peut très bien saisir sur des coupes minces de débris silicifiés, paraissent avoir joué un rôle important dans les processus de décomposition dont ces corps ont été le siège, tout comme aujourd'hui des espèces actuelles agissent, dans des conditions similaires, sur les débris animaux ou végétaux. Diverses espèces de *Micrococcus* paraissent surtout être fréquentes; les formes bacillaires sont plus rares et semblent ne se rencontrer qu'au milieu des tissus, pour faire penser que les Bacilles n'apparaissaient qu'à la fin des fermentations commencées par les Microcoques. La transformation des parois végétales en houille, en particulier, peut bien avoir demandé, comme condition préalable, l'action sur les tissus des plantes des espèces bactériennes qui se rencontrent en grande abondance dans beaucoup des débris examinés. Ces microbes jouaient un rôle important dans la formation de la houille, des bogheads, des lignites et se retrouveraient encore actuellement dans les phénomènes similaires de la production de la tourbe.

Il n'est guère possible de rapporter les espèces observées à celles qui existent aujourd'hui ; les caractères essentiels, les caractères culturaux, ne pouvant être connus. On ne peut que constater quelques similitudes de formes. On vient de voir que Van Tieghem a trouvé dans des plantes de l'époque houillère des éléments semblables à ceux, bien caractéristiques, du *Bacillus amylobacter*. Renault a retrouvé dans des os, des écailles de poisson, des dents enfermées dans des coprolithes, excréments fossiles, des Microcoques et des Bacilles rappelant, par leurs formes et leurs dimensions, les Microcoques et les Bacilles décrits par Vignol, Malippe, Giller, et qui déterminent maintenant la carie des os et des dents.

Les processus de décomposition actuels semblent donc se passer comme ceux d'autrefois. Peut-être même sont-ils sous la dépendance d'espèces microbiennes identiques, qui se seraient alors perpétuées dans la longue série des âges sans subir de modifications. Ce sont là, il faut le reconnaître, des faits qui ne plaident guère en faveur du transformisme.

4. Rôle des Bactéries dans la nature.

D'une façon générale, les Bactéries sont des agents de simplification moléculaire. Ce sont les grands modificateurs de la matière organique

(1) Miller, Der Einfluss der Microorganismen auf die Carie der Zähne (*Arch. für experimentelle Pathologie*, XVI, 1882).

(2) Van Tieghem, Sur le ferment butyrique (*Bacillus amylobacter*) à l'époque de la houille (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1879, t. LXXXIX, p. 1102).

(3) Renault, Bactéries des temps primaires (*Bull. du Muséum d'hist. nat.*, I, 1895). Bactéries fossiles (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CXX, 1895, p. 162, 1896, p. 953). Bactériacées de la houille et des lignites (*Ibid.*, CXXIII, CXXIV, 1897, p. 1315 ; CXXVI, 1898, p. 1828). — Recherches sur les Bactériacées fossiles (*Ann. des sc. nat.*, *Bot.*, 1896, II, p. 175).

morte, des substances usées par la vie des êtres plus élevés, animaux ou plantes, toutes substances qui, sans eux, seraient immobilisées dans cet état sans possibilité de retour dans un circuit vital. Les Bactéries décomposent ces produits, souvent complexes, en des composés plus simples dont les principaux sont l'acide carbonique et l'ammoniaque, facilement assimilables par les végétaux à chlorophylle ; elles sont, sous ce rapport, les compléments obligés de l'énergie solaire. Les plantes vertes, organismes de synthèse, réédifient, avec les matériaux simples qu'elles peuvent utiliser, de nouvelles molécules complexes, matières grasses, hydrocarbonés, albuminoïdes, qui peuvent alors servir d'aliment à l'animal. Celui-ci utilise ce qu'il y peut prendre d'énergie et rejette le reste sous une forme inutilisable pour la plante et l'animal. La matière fixée par le développement de la plante ou de l'animal doit aussi être modifiée; elle est sous forme solide, insoluble en partie dans l'eau, toujours impropre à nourrir un végétal. Les éléments utilisables, ne se renouvelant pas puisqu'ils resteraient fixés, seraient bien vite usés, la vie deviendrait impossible. C'est cette solubilisation, cette désagrégation, ce retour à des formes simples, utilisables pour la plante, qui sont opérés, d'une façon on peut dire exclusive, par la vie microbienne.

Ce rôle d'agents de décomposition au premier chef peut faire penser que la véritable fonction des Bactéries dans la statique du monde vivant est d'être des organismes *saprophytes* (σαπρος, putride ; φυτον, plante), s'attaquant à la matière organique morte ; leurs autres fonctions seraient secondaires et acquises. En particulier, les espèces actuellement pathogènes se seraient adaptées à la vie parasitaire ; les unes incomplètement, pouvant encore jouer le rôle ordinaire et ne vivant en parasites que par occasion ; les autres complètement ou à peu près, tellement leur adaptation a été parfaite et parce qu'elles ne retrouvent que bien difficilement dans le milieu extérieur les conditions de vie qu'elles se sont rendues nécessaires.

On verra du reste plus loin que des microbes pathogènes vrais semblent pouvoir revenir au type de saprophytes purs, en perdant toute action pathogène appréciable. D'autre part, les expériences de Charrin et Nittis (1), celles plus récentes de Vincent (2) permettent d'admettre que des saprophytes avérés, types, peuvent, dans des conditions favorables, commencer à s'adapter à la vie parasitaire et acquérir un pouvoir pathogène indéniable. D'ailleurs, bien des espèces, tenues comme uniquement saprophytes, forment des produits nuisibles, véritablement toxiques, agissant ainsi comme les espèces parasites reconnues et formant un lien, une transition toute naturelle entre les deux groupes.

(1) Charrin et de Nittis, Un *Bacillus subtilis* pathogène (*Soc. de Biol.*, 17 juillet 1897).

(2) Vincent, Sur les aptitudes pathogènes des microbes saprophytes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 785).

PREMIÈRE PARTIE

MORPHOLOGIE ET BIOLOGIE GÉNÉRALES DES BACTÉRIES

CHAPITRE PREMIER

MORPHOLOGIE DES BACTÉRIES

1. Formes.

Les cellules qui constituent le corps des Bactéries, leur *thalle*, pour parler le langage des botanistes, affectent trois formes fondamentales :

1° Tantôt ce sont des sphères, plus ou moins régulières, parfois s'étirant suivant un diamètre pour devenir ovoïdes ou ellipsoïdes. Ces formes sont nommées *Micrococcus*, nom choisi comme générique, ou d'un terme moins spécial, *Coccus* (fig. 1 ; *1*, *2*, *3*, *4*, *5*).

2° Si la longueur l'emporte sur la largeur, on a des *bâtonnets*. Lorsque la première de ces dimensions excède peu la seconde, ce sont de courts cylindres qui donnent même des figures ovales lorsque leurs extrémités sont régulièrement arrondies (fig. 1 ; *6*). Quand la longueur atteint un petit nombre de fois la largeur, c'est la forme de bâtonnets proprement dits ou de *bacilles* (fig. 1 ; *7*). Dans ce cas, le bâtonnet peut être de grosseur régulière d'un bout à l'autre, ou être renflé à une extrémité en forme de têtard de grenouille, ou en son milieu de manière à figurer un fuseau plus ou moins régulier. La production de ces renflements est toutefois un fait spécial, que nous verrons dépendre toujours, dans les cas normaux, de la formation de la spore. La longueur peut l'emporter un grand nombre de fois sur la largeur, c'est la forme de *filaments* (fig. 1 ; *11*).

3° Tantôt, enfin, ce sont des filaments plus ou moins courbés. Ils peuvent ne former simplement qu'une portion de circonférence : ce sont les formes en *Virgule* (Komma), plusieurs espèces de l'ancien genre *Vibrio* ; ou constituer une vraie spirale à tours plus ou moins nombreux, plus ou moins serrés (fig. 1 ; *12*, *13*), ce sont les formes désignées comme *Spirillum* et *Spirochæte*. Le nom de *Spiruline* était réservé pour les filaments courbés se repliant de façon à doubler leurs tours. Cette dernière disposition paraît par trop accidentelle pour qu'on lui conserve une importance aussi grande ; beaucoup de Bacilles, les *Bacillus mesentericus ruber* et *vulgatus*, le *Bacillus anthracis* présentent, dans des vieilles cultures, des filaments en cordes, en tresses, en nattes, sans qu'on puisse donner quelque importance à cette forme.

Les premiers observateurs ont tiré de la forme des Bactéries des distinctions de grande importance pour la division en genres et en espèces.

C'est encore jusqu'ici le caractère qui semble primer les autres, quoiqu'on le sache aujourd'hui beaucoup moins immuable qu'on le supposait être autrefois; c'est lui qui sert de base à beaucoup de classifications proposées.

Jusque dans ces derniers temps, il était admis qu'une espèce donnée ne pouvait présenter, dans le cours de son existence, qu'une des formes ci-dessus désignées, à l'exclusion absolue des autres. Cette opinion a été fortement battue en brèche, lorsqu'on est arrivé à prouver que certaines espèces pouvaient, selon les circonstances de milieu ou la phase de leur cycle évolutif, donner tantôt des cellules sphériques, des *Coccus*, tantôt des filaments droits, tantôt des filaments spiralés.



Fig. 1. — Forme des Bactéries en général.

1, *2*, *3*, *4*, *5*, Coccus de différentes formes et grosseurs ; *6*, court bâtonnet ; *7*, long bâtonnet ; *8*, *9*, formes renflées; *11*, filament; *12*, formes en virgules ; *13*, formes spiralées ; *14*, filament ramifié.

Dès lors, la valeur du caractère fut niée, avec acharnement même, par des observateurs comme Naegeli (1) qui n'admettait aucune distinction possible entre ces cellules qui pouvaient, selon les conditions d'existence, revêtir les formes les plus diverses et provoquer toutes les fermentations ou toutes les maladies infectieuses.

Il est cependant une condition essentielle, qui fait que ces variations de formes observées ne peuvent avoir la valeur générale qu'on leur prête : c'est qu'elles ne se produisent que lorsqu'on les provoque pour ainsi dire expérimentalement, en faisant vivre les éléments étudiés dans des conditions spéciales, qui souvent semblent nettement anormales pour un observateur non prévenu. C'est certainement la condition qui ressort des principaux travaux cités à l'appui de la théorie, en particulier d'un important mémoire de Wasserzug (2) sur le *Micrococcus prodigiosus* et des observations de Guignard et Charrin sur le *Bacille pyocyanique* (3). D'ailleurs, fait non moins précieux, dès qu'on place des éléments modifiés par les influences précédentes dans des conditions qui semblent normales pour eux, la forme typique reparaît.

Les preuves à l'appui de la théorie de la *variabilité des formes* ou du

(1) NAEGELI, Untersuchungen ueber niederen Pilze, 1878.

(2) WASSERZUG, Variations durables de la forme et de la fonction chez les Bactéries (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888, n° 3).

(3) GUIGNARD et CHARRIN, Sur le polymorphisme des Microbes (*Journ. de méd.*, 1888). Et : CHARRIN, La maladie pyocyanique, 1889.

pléomorphisme ou *polymorphisme* des Bactéries ne manquaient pas, disait-on. Un de ses partisans, Zopf (1), en citait d'excellentes.

Cohn (2) avait décrit sous le nom de *Cladothrix dichotoma* une Bactérie filamenteuse abondant souvent dans les eaux impures, dont les filaments,

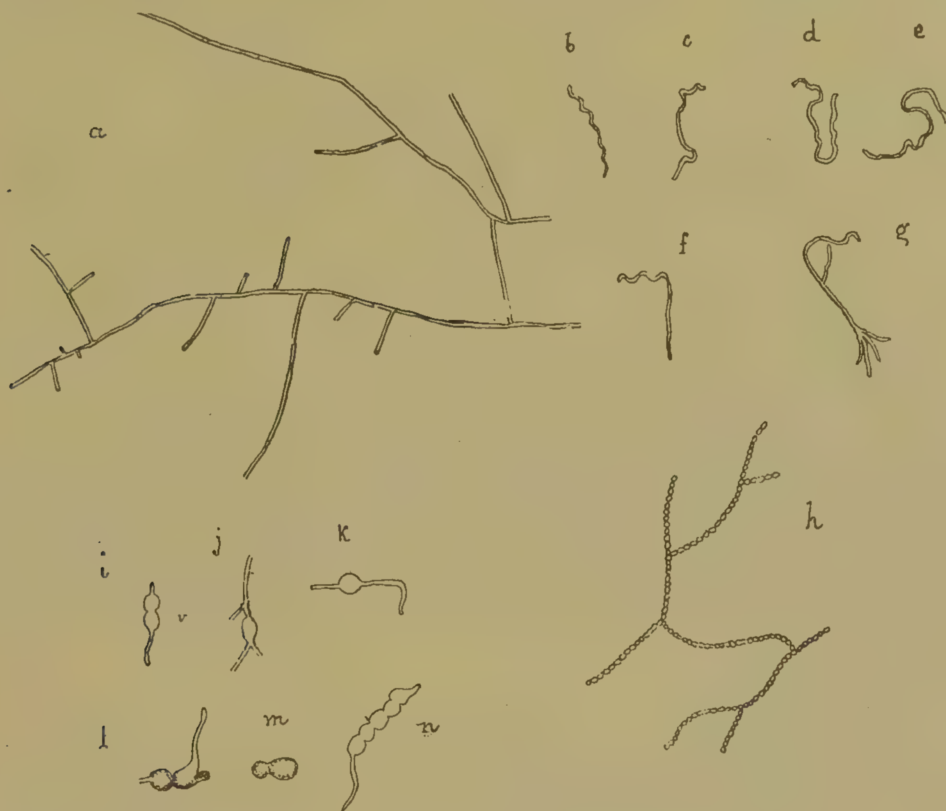


Fig. 2. — Différentes formes d'un *Cladothrix*, 900/1.

a, portion de filament ramifié ; *b*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, parties de filaments diversement contournés ; *h*, filament segmenté en spores ; *i*, *j*, *k*, *l*, *m*, *n*, formes anormales (formes d'involution).

se ramifiant par poussée latérale, ont une apparence toute spéciale (fig. 2). Zopf, en étudiant le développement complet de cette espèce, a cru pouvoir lui rattacher toute une série de formes arrondies, en courts bâtonnets, en filaments courbés et spiralés qui avaient été considérées jusqu'alors comme autant de types spécifiques distincts.

Le même observateur (3), étudiant les organismes connus sous le nom de *Beggiatoa*, y signalait un cycle de formes des plus variées. Une cellule sphérique, un *Coccus*, pouvait, selon lui, d'après les conditions d'existence, s'allonger en une forme filamenteuse, ou se segmenter suivant diverses directions pour former des colonies planes ou massives, ou enfin produire des formes mobiles en tout semblables aux êtres désignés sous le nom de Monades.

(1) Zopf, Die Spaltpilze, Breslau, 1885.

(2) Cohn, Untersuchungen über Bacterien (*Cohn's Beitr. zür Biol. der Pflanzen*, I, 3e p., p. 141).

(3) Zopf, Zur Morphologie der Spaltpflanzen, 1883.

Les belles recherches de Winogradsky (1) ont démontré avec toute certitude que Zopf, en observant les *Beggiatoa*, avait confondu dans un même type toute une série de formes, ayant entre elles des caractères de ressemblance certains, mais appartenant à des espèces sûrement distinctes les unes des autres.

La morphologie des *Cladothrix* n'apporte pas plus de preuves à l'appui de la théorie du pléomorphisme. Il n'est certes guère possible de considérer comme des Bactéries spiralées, des *Spirilles*, les portions de filaments ondulées ou même assez régulièrement spiralées qui se rencontrent fréquemment sur les parties terminales des rameaux. Ces portions peuvent bien s'isoler, mais tout autre morceau de filament peut le faire aussi : d'après mes observations, elles ne présentent jamais d'apparence de mobilité et n'ont du reste jamais l'aspect des véritables Spirilles (fig. 2 ; *b*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g*). Quant à la production d'articles en courts bâtonnets, d'articles arrondis, de coccus, elle est réelle, mais se rattache intimement aux phases normales de la reproduction dans le type dont il est question. Or, il faut avouer que cette espèce peut revêtir dans le courant de son cycle évolutif, comme beaucoup d'autres formes spécifiques vivantes du reste, des états successifs divers sans perdre pour cela son individualité. De plus, Zopf n'a pas fait ses observations sur des cultures pures, mais au contraire à l'aide de matériaux, eau de marais putréfiée, qui contenaient certainement bien des espèces différentes.

On se trouve tout à fait en droit d'affirmer, avec Winogradsky, qu'on n'a cité jusqu'à présent aucun cas de pléomorphisme vrai chez les Bactéries.

C'est à cette opinion que se rattache actuellement aussi Guignard (2) qui, à la suite d'expériences faites sur le *Bacille pyocyanique* avec Charrin (3), s'était pleinement rallié aux idées de polymorphisme. Ces savants, additionnant les milieux de cultures d'antiseptiques divers, en proportions insuffisantes pour entraver complètement le développement du Microbe, observaient des modifications de forme très variées et souvent profondes. Il était évident que les conditions d'existence tout à fait anormales dans lesquelles la Bactérie se trouvait placée étaient surtout à mettre en jeu, et que les modifications obtenues ne pouvaient être considérées que comme très secondaires ; la meilleure preuve en est le retour complet et rapide à la forme normale dès que de tels éléments, modifiés tératologiquement, se trouvent placés dans un milieu habituel. Jusqu'ici, malgré tout, on est bien forcé de reconnaître qu'on n'a pas encore apporté de preuve certaine à l'appui de la variabilité des types des espèces microbiennes (4).

Certaines espèces présentent, dans des conditions mal déterminées encore, mais qui paraissent défavorables, à des endroits variables de leurs éléments, des renflements de formes et de dimensions très variables (fig. 3). On considère ces changements de forme comme

(1) Winogradsky, Zur Morphologie und Physiologie der Schwefelbacterien, 1888. — *Id.*, Sur le pléomorphisme des Bactéries (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1889, n° 5).

(2) Guignard, Traité de pathologie générale de Bouchard, t. II, p. 56 et suiv.

(3) Guignard et Charrin, Sur les variations morphologiques des Microbes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 5 décembre 1887).

(4) Rodet, De la variabilité dans les microbes. Paris, J.-B. Baillière, 1894.

des états pathologiques ; les auteurs allemands les désignent sous le nom de *formes d'involution*. Ces monstruosités seraient un résultat direct du défaut de nutrition. Elles s'observent communément chez beaucoup d'espèces. D'après Hansen (1), les bâtonnets de la *Mère du vinaigre* (*Bacillus aceti*), quand leur liquide nutritif s'épuise, se renflent d'une façon très irrégulière et donnent des formes en fuseaux, en



Fig. 3. — Formes d'involution.

1, chez le *Streptocoque pyogène*; 2, chez le *Proteus mirabilis* (Hauser); 3, chez le *Spirille du choléra* (Van Ermenghem); 4, chez le *Bacillus anthracis* (Büchner); 5, chez le *Bacillus subtilis* (Büchner) ; 6, chez le *Bacillus aceti* (Hansen).

biscuits, en bouteilles (fig. 3, *6*). Buchner (2) a montré que de semblables formes apparaissent chez les *Bacillus subtilis* et *Bacillus anthracis* (fig. 3, *4*, et *5*) quand, dans le liquide où on cultive ces espèces, la proportion des matières sucrées est trop forte pour celle de matière azotée. Ce qui prouverait bien que ces variations sont occasionnées par la nutrition défectueuse. Les variations du *Bacille pyocyanique* dont il a été question plus haut sont probablement de même nature.

Ce qui semble clairement résulter de ceci, c'est qu'il faut d'abord

(1) Hansen, Contribution à la connaissance des organismes qui peuvent se trouver dans la bière et le moût de bière et y vivre. Copenhague, 1879.

(2) Buchner, Beitrage zur Morphologie der Spaltpilze (*Naegeli's Unters. ueber niederen Pilze*, 1882, p. 205).

distinguer, chez les êtres, la forme de l'élément actif; c'est la bonne, la vraie, paraissant constante ou à peu près. Puis, mais secondairement, les formes des éléments modifiés dans une voie quelconque, paraissant anormales, peut-être des formes de dégénérescence (formes d'involution, etc). On doit attribuer nécessairement aux formes de ces dernières catégories une importance bien moindre.

Les bâtonnets et les filaments ne paraissent pas posséder de parties antérieure et postérieure différenciées : les deux extrémités sont la plupart du temps identiques.

Les *dimensions* des Bactéries sont toujours fort restreintes. Les espèces sphériques ont un diamètre qui oscille entre 0 μ,3 et 2 μ. Les espèces en bâtonnets ou en filaments ont une épaisseur qui peut varier dans les mêmes limites; la longueur est souvent de deux à dix fois la mesure de l'épaisseur. Les filaments de certaines espèces peuvent atteindre une très grande longueur sans présenter de segmentation, apparente au moins.

2. Structure.

Les formes élémentaires des Bactéries ont été nommées *cellules* et considérées comme telles avant qu'on ait pu avoir des notions suffisantes sur leur structure. Leur mode d'accroissement rappelait celui de bien des cellules végétales, ce fut une raison pour les en rapprocher.

En examinant au microscope, même à de très forts grossissements, des Bactéries bien vivantes, sans faire intervenir aucun réactif ni prendre des cellules altérées ou trop vieilles, la structure paraît être des plus simples. Les éléments, coccus ou bâtonnets, sont de petits corps hyalins, semblant tout à fait homogènes. Ce n'est qu'avec certaines espèces, à éléments de grandes dimensions, qu'un examen direct attentif peut faire constater l'existence de fines granulations à l'intérieur. Pour les autres, quand on y veut distinguer quelques détails, il faut faire intervenir des conditions spéciales, employer des réactifs colorants, modifier l'élément par une action quelconque. Mais aussi on ne peut pas plus être certain de ne pas avoir changé la véritable structure, que les formes vues ne sont pas des modifications provoquées par les réactifs employés, des aspects en quelque sorte artificiels.

A l'aide de certains artifices de préparation, en particulier de réactifs colorants ou fixateurs, ou tout au moins pouvant contracter le protoplasme, il devient possible de constater des particularités de structure intéressantes. On peut se rendre compte que ces éléments sont formés d'une masse protoplasmique entourée d'une membrane.

MEMBRANE. — La *membrane*, chez quelques grosses espèces à contenu finement granuleux, peut se distinguer sans artifice de préparation, à un très fort grossissement, comme un mince liséré à double contour. Beaucoup plus souvent, elle se confond complètement avec le contenu dont elle a la réfringence. On ne l'aperçoit bien qu'après avoir contracté le contenu cellulaire par un réactif approprié. La chaleur, l'alcool absolu peuvent servir. Fischer (1) recommande, pour l'observer facile-

(1) FISCHER, Untersuchungen über Bakterien (*Jahrb. für wiss. Bot.*, XXVII, 1894). Et : Vorlesungen über Bakterien. Iéna, 1897.

ment, de mettre en œuvre la *plasmolyse*, de déterminer par osmose une contraction du protoplasme en faisant agir sur les cellules une solution saline, contenant une matière douée d'un pouvoir osmotique plus considérable que le suc cellulaire, par exemple une solution de salpêtre à 5 p. 100 ou de sel marin à 2,5 p. 100. On voit alors le contenu se séparer nettement de la membrane et il devient possible de délimiter nettement ce qui appartient à cette dernière. Les réactifs colorants, en imprégnant différemment chacune de ces parties, peuvent donner le même résultat.

On peut arriver à produire des modifications identiques, les mêmes phénomènes de plasmolyse, en faisant vivre certaines espèces dans des

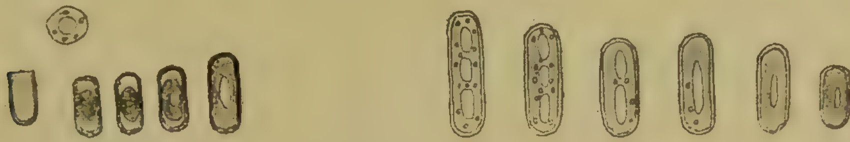


Fig. 4. — *Bacillus oxalaticus.*

A droite, éléments normaux avec vacuole centrale et débuts de la division ; à gauche, éléments ayant subi la plasmolyse (d'après Migula).

conditions spéciales, aux dépens de milieux particuliers. Podwyssotzky et Taranoukhine (1) ont observé d'une façon très nette les phénomènes de plasmolyse chez la *Bactéridie charbonneuse* en cultivant cette espèce à 42°-43° dans des milieux contenant de la matière cérébrale broyée et des peptones ; le corps actif serait la lécithine.

Cette membrane est tantôt mince, tantôt plus ou moins épaisse. Dans ce dernier cas, il est le plus souvent possible de lui reconnaître deux couches (2) : une interne, mince, transparente, qui semble être la vraie membrane ; l'autre externe, moins bien délimitée, plus épaisse, comme gélatineuse, parfois peu visible, d'autres fois très évidente. Künstler et Busquet (3) proposent de nommer cette dernière *couche gélatineuse* et l'interne *couche cuticulaire.*

Suivant ces derniers observateurs, la couche gélatineuse ne serait pas complètement homogène, mais présenterait « des stries transversales d'une finesse et d'une légèreté des plus extrêmes, qui pourraient être interprétées comme l'expression d'une série longitudinale d'alvéoles ». Cette couche gélatineuse provient probablement d'une différenciation particulière des zones périphériques de la couche cuticulaire sous-jacente qui acquièrent le pouvoir d'absorber de l'eau et de se transformer en une sorte de gelée. C'est là un processus qui s'observe fréquemment dans les membranes cellulaires végétales, et particulièrement chez beaucoup d'Algues. Cette couche résiste d'habitude aux réactifs colorants, même les plus diffusibles ; elle apparaît comme un liséré hyalin, une sorte d'auréole claire autour des éléments colorés. Son degré de diffluence varie selon l'espèce d'abord et ensuite selon le milieu où elle se trouve. Elle peut mesurer une épaisseur relativement consi-

(1) Podwyssotzky et Taranoukhine, Contribution à l'étude de la plasmolyse chez les Bactéries (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1898, XII, p. 501).

(2) Traité pratique de Bactériologie, 1re édition, 1889, p. 19.

(3) Kunstler et Busquet, Observations sur la structure des Bactériacées et des organismes voisins. Bordeaux, 1897.

dérable ; le corps cellulaire paraît alors noyé dans la masse de gelée qui l'entoure.

Les formations décrites sous le nom de *capsules* ne sont qu'une exagération, un grand développement de cette couche gélatineuse. Un assez grand nombre d'espèces en présentent d'une façon relativement constante dans des conditions déterminées. Parmi les mieux pourvues, à ce point de vue, se trouvent le *Pneumocoque*, le *Pneumobacille*. Chez d'autres, il y a une exagération plus marquée encore du même processus, qui devient alors plutôt une véritable sécrétion de matière gélatineuse, comme chez le *Bacterium pediculatum* isolé par Koch et Hosaeus (1) d'eaux de sucreries et le *Bacterium vermiforme* trouvé par Marshall Ward (2) dans la bière de gingembre. D'autres, au contraire, montrent cette capsule très mince ou n'en ont jamais. Il est des procédés de coloration qui la mettent mieux en évidence (Voy. : *Coloration des capsules*). Parfois, elle paraît inconstante, chez le *Bacille du charbon* par exemple, où je l'ai signalée en 1888, fait confirmé plus tard par Kern (3). La plupart des espèces à capsules ne les présentent que dans des conditions spéciales, surtout lorsqu'elles se développent dans l'organisme ou dans des milieux particuliers, comme le sérum liquide, parfois le lait. Les formations connues chez l'*Actinomyces* sous le nom de *massues* sont peut-être à rapprocher des capsules. L'origine de ces capsules ne paraît devoir faire aucun doute; elles proviennent de la diffluence de la partie externe de l'enveloppe.



Fig. 5. — *Bacterium pediculatum* (d'après Koch et Hosaeus).

Au-dessous de cette couche gélatineuse, se trouve la *couche cuticulaire* qui peut être considérée comme la vraie membrane. Elle est plus dense, plus réfringente et alors d'aspect plus sombre, plus résistante que la précédente. La plasmolyse la fait facilement distinguer du contenu protoplasmique. Elle a d'ordinaire une épaisseur moindre que la couche gélatineuse. A de très forts grossissements, d'après Künstler et Busquet, elle montrerait des alternances plus claires et plus sombres, expression d'une structure alvéolaire.

La membrane, dans sa totalité, souvent rigide et dure, peut se montrer très souple et très flexible : chez certaines espèces de Bactéries spiralées mobiles, elle suit en effet les ondulations si rapides de la masse protoplasmique.

Il est des cas où divers éléments peuvent s'entourer d'une enveloppe commune, dans des conditions peu déterminées encore. Doit-on accorder à cette enveloppe la simple valeur d'une membrane ou plutôt la regarder

(1) Koch et Hosaeus, Ueber einen neuen Froschlaich der Zuckerfabriken (*Centralbl. für Bakt.*, XVI, 1894).

(2) Marshall Ward, The Ginger-Beer plant and the organisms composing it (*Philosophical Transact. Royal Soc. London*, CLXXXIII, 1892).

(3) Kern, Ueber die Kapsel des Anthraxbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 166).

comme un kyste destiné à protéger les éléments qui l'ont produit? La question est encore difficile à trancher. Des faits de ce genre se rencontrent chez les *Ascococcus* et les *Ascobacterium*, qui paraissent bien devoir être regardés comme de vraies Bactéries. Ceux décrits par Thaxter (1) et Zukal (2) chez les organismes qu'ils nomment *Myxobactéries*, paraissent être d'une complication plus grande et se rapprocher d'une véri-



Fig. 6. — *Bacterium vermiforme* (d'après Marshall Ward).

table constitution d'une sorte de fruit, établissant plutôt des relations entre ces êtres et les Myxomycètes. Il est difficile d'être plus affirmatif sur la nature et la signification de telles enveloppes.

La composition chimique de la membrane est peu connue. Il est trop difficile de l'isoler du restant de la cellule; d'autre part, les réactions microchimiques n'apprennent que peu de chose. Dans la majorité des cas, elle ne semble pas être formée de cellulose, ce qui éloignerait les Bactéries des Algues et des Champignons et pourrait les rapprocher des Flagellés. De petites quantités de cellulose se trouveraient d'après Bovet (3) dans un Bacille isolé d'un cas d'érythème noueux, chez le *Bacille tuberculeux* d'après Hammerschlag (4), chez le *Bacillus subtilis* d'après Dreyfuss (5); j'ai signalé la production de la réaction caractéristique de la cellulose, le bleuissement par l'acide sulfurique et l'iode ou

(1) Thaxter, On the Myxobacteriacæ, a new order of Schizomycetes (*Botanical Gazette*, XVII, décembre 1892).

(2) Zukal, Myxobacterien (*Bericht. der deutschen bot. Gesellschaft*, 1897, p. 542).

(3) Bovet, Ueber die chemische Zusammensetzung der Bacillen des Erythema nodosum (*Monatshefte für Chemie*, IX, p. 1154).

(4) Hammerschlag, Bakteriologische-chemische Untersuchungen der Tuberkelbacillen (*Monatshefte für Chemie*, X, p. 9).

(5) Dreyfuss, Ueber das Vorkommen von cellulose in Bacillen, Schimmel und anderen Pilzen (*Zeitschr. für physiol. Chemie*, XVIII, 1894, p. 358).

par le chloro-iodure de zinc chez certains éléments de la *Sarcina aurea*; Suringar (1) l'avait observé également sur la *Sarcina ventriculi* où Gruber (2) ne l'a pas rencontré. D'après Neisser (3), la membrane du *Bacille du xérosis de la conjonctive* serait formée d'une matière grasse; n'est-ce pas seulement imprégnée qu'il faudrait dire?

Pour la plupart des espèces étudiées à ce point de vue, la membrane serait un composé azoté. Nencki (4) a étudié une Bactérie de la putréfaction dont la membrane serait pour une bonne partie un composé d'albuminoïde, la *mycoprotéine.* D'après Vincenzi (5), la membrane du *Bacillus subtilis* serait un corps azoté sans trace de cellulose. Bütschli (6) considère aussi la substance de la membrane comme un composé d'albuminoïde, d'origine protoplasmique.

D'ordinaire, en effet, la membrane présente bien nettement les réactions des matières albuminoïdes. Elle se teint en particulier en rouge-rose par le réactif de Millon et se colore faiblement en jaune par l'iode; elle se comporte vis-à-vis des couleurs d'aniline comme un albuminoïde. Elle résiste toutefois à la lessive de potasse et aux solutions de pepsine et de trypsine.

Comme composition chimique, il y aurait peut-être lieu de faire ici une distinction entre la membrane proprement dite, qui paraît bien être de nature albuminoïde, et les formations capsulaires qui pourraient être, dans certains cas, au moins, de la même nature que les membranes gélifiées végétales, ne présentant pas les réactions habituelles de la matière cellulosique, tout en étant formées d'un corps de la série des hydrates de carbone; c'est au moins ce qui semble exister chez le *Leuconostoc mesenterioides* de la *Gomme de sucreries* et chez certaines *Mères de vinaigre.*

Chez quelques espèces qui vivent souvent dans les eaux ferrugineuses, des *Leptothrix* et des *Cladothrix* par exemple, la membrane, gélifiée ou non, peut être colorée, par l'oxyde de fer, en brun rouge sale ou en vert-olive.

Chez les Bactéries productrices de pigment, la membrane reste toujours incolore, au moins tant que la cellule est vivante; elle peut se colorer après la mort, par diffusion ou dépôt du pigment.

La membrane contient certainement une petite quantité de composés minéraux; il est difficile de déterminer ce qui lui revient dans la teneur en cendres du corps complet des Bactéries.

Protoplasma et noyau. — La structure du contenu cellulaire a paru longtemps des plus simples; on en faisait une masse homogène, transparente, montrant à peine quelques granulations auxquelles on n'attribuait aucune importance. En étudiant, à de forts grossissements, les éléments bien vivants d'espèces de grande taille, et surtout en s'aidant de réactifs colorants ne paraissant pas nuire à la vie microbienne,

(1) Suringar, Ein Wort über den Zellenbau von Sarcina (*Bot. Zeit.*, 1866).

(2) Gruber, Die Arten der Gattung Sarcina (*Arb. aus den bakt., Inst. der techn. Hochschule zu Karlsruhe*, I, 1895).

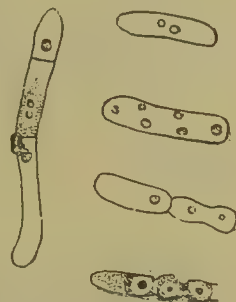
(3) Neisser, *Deutsche méd. Wochensch.*, 1884, n° 21.

(4) Nencki, Beitrage zur Biologie der Spaltpilze (*Journ. für prakt. Chemie*, XIX et XX).

(5) Vincenzi, Ueber die chemische Bestandtheile der Spaltpilze (*Zeitschr. für physiol. Chemie*, XI, p. 186, 1886).

(6) Butschli, Ueber den Bau der Bakterien. Leipzig, 1890.

comme une solution aqueuse diluée de vert de méthyle, il est facile de reconnaître que leur contenu cellulaire n'a pas la transparence et l'homogénéité qu'on voulait lui attribuer. Il a, au contraire, un aspect nettement granuleux, et souvent on observe dans sa masse de grosses sphères plus brillantes, absorbant légèrement la matière colorante, qu'il n'est pas invraisemblable de considérer comme des noyaux (fig. 7).


Fig. 7. — Bactéries du tartre dentaire du chien : 1200/1.

Le nombre de ces sphères ne semble pas fixe, même pour une espèce donnée ; on peut n'en trouver qu'une, ou deux au milieu d'un bâtonnet; d'autres fois plusieurs, alors plutôt rapprochées de la membrane, formant des files longitudinales.

En employant des méthodes plus compliquées, surtout en faisant intervenir des réactifs fixateurs et colorants plus énergiques, il est possible d'arriver à observer plus de détails. Il est vrai que l'action des réactifs peut alors être pour quelque chose dans les aspects observés.

Les observations de bien des observateurs, particulièrement Ernst (1), Babès (2), Bütschli (3), Künstler (4), Protopopoff (5), Trambusti et Galeotti (6), Sjöbring (7), Migula (8), Fischer (9), démontrent qu'il existe une différenciation bien marquée dans ce contenu cellulaire en apparence homogène, différenciation qui se traduit surtout par la manière d'agir à l'égard des réactifs colorants employés.

Immédiatement au-dessous de la membrane se trouverait une mince couche pariétale, *couche sous-cuticulaire* de Künstler, qui pour Bütschli serait le vrai protoplasma, non pas homogène, mais d'apparence réticulée ou formé d'alvéoles à forme de tonnelet (Künstler et Busquet). Le restant du contenu constituerait le *corps central* (Bütschli), à caractères autres, se distinguant surtout par son avidité pour beaucoup de colorants. La structure de cette partie serait également assez compliquée. Elle peut paraître très simple, tout à fait homogène. Ou bien elle montre une structure alvéolaire très nette, elle est formée d'une

(1) Ernst, Ueber Kern und Sporenbildung bei den Bakterien (*Zeitschr. für Hygiene*, V, 1888).

(2) Babès, Ueber isoliert farbbare Antheile in Bakterien (*Zeitschr. für Hygiene*, V, 1888). — Beobachtungen über die metachromatischen Körperchen, Sporenbildung, Verzweigung, Kolben und Kapselbildung pathogener Bakterien (*Ibid.*, XX, 1895, p. 412).

(3) Butschli, Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig, 1890.

(4) Kunstler, Contribution à la technique des Bactériacées (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1887, CV, p. 684). — *Id.*, Recherches sur la morphologie des Flagellés (*Bull. scient. du Nord*, 1889, p. 456). — Kunstler et Busquet, Observations sur la structure des Bactériacées et des organismes voisins. Bordeaux, 1898. — *Id.*, Sur la valeur nucléaire du corps central des Bactéries (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1897, CXXV, p. 112).

(5) Protopopoff, Sur la question de la structure des Bactéries (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1891, V, p. 332).

(6) Trambusti et Galeotti, Neuer Beitrag zur Studium der inneren Struktur der Bakterien (*Centralbl. für Bakt*, 1892, XI, p. 717).

(7) Sjöbring, Ueber Kern und Theilungen bei den Bakterien (*Ibid.*, p. 65).

(8) Migula, Ueber den Zellinhalt von Bacillus oxalaticus (*Arb. aus den bakt. Inst. der techn. Hochschule zu Karlsruhe*, I, 1894).

(9) Fischer, Untersuchungen über Bakterien (*Jahrb. für wiss. Bot.*, XXVII, 1895).— Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig, Fischer, 1897.

ou plusieurs files d'alvéoles souvent très régulières, fait déjà signalé par Künstler en 1886 pour le *Spirillum tenue*. La complication peut être ici plus ou moins grande ; dans les formes très simples, chez beaucoup de *Micrococcus* par exemple, ce corps central serait uni-alvéolaire ; chez d'autres, il se trouverait deux alvéoles ; chez les formes plus grandes et plus complexes, les alvéoles, plus ou moins nombreux, formeraient des files longitudinales simples ou multiples.

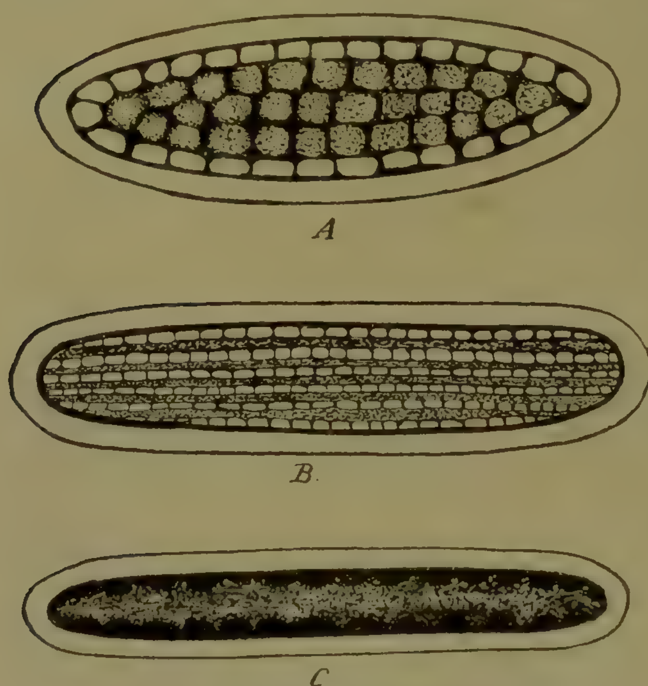


Fig. 8. — *Bacillus subtiliformis.*

A, coupe optique médiane ; B, vue superficielle ; C, couche cuticulaire à alvéoles sombres, (d'après Kunstler et Busquet.)

Pour Bütschli, le corps central serait tout entier un noyau ; les Bactéries seraient des cellules constituées presque exclusivement, peut-être même exclusivement par un noyau. Il se base surtout sur ce que ce corps central prend certaines couleurs, et tout particulièrement l'hématoxyline, plus fortement que le protoplasma qui l'entoure. Künstler et Busquet contestent avec raison la valeur de ce caractère en faisant remarquer que beaucoup d'êtres inférieurs, des Flagellés comme le *Trichomonas intestinalis*, les spermatozoïdes, sont constitués par une couche tégumentaire alvéolaire enveloppant un parenchyme plus chromophile qui contient un véritable noyau et ne peut être considéré comme tel. Des Saccharomycètes, la *Levure de bière* par exemple, présentent, eux aussi, le même phénomène. Il devient difficile de l'admettre pour les Bactéries. Le corps central ne peut être considéré que comme une partie de protoplasma différenciée, à propriétés chromophiles fortement accusées, mais n'ayant pas cependant sous ce rapport ces mêmes propriétés identiques à celles qui dénotent la véritable substance nucléaire.

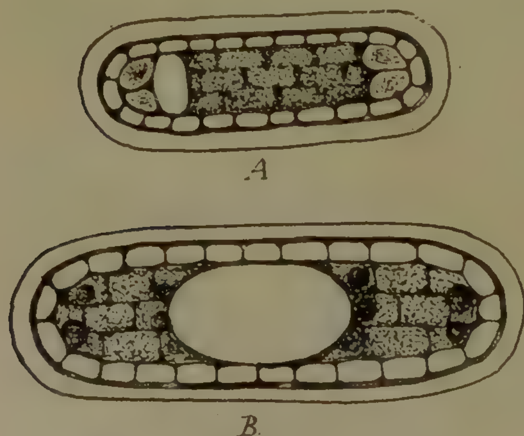


Fig. 9. — *Bacillus colicommunis.*

A, coupe optique montrant le corps central et les extrémités clairs ; B, coupe optique montrant la vacuole centrale et des granulations disséminées (d'après Kunstler et Busquet.)

Dans ce corps central se trouvent des inclusions cellulaires de nature variée, surtout des vacuoles, le ou les noyaux et des granulations sur la nature desquelles on est encore peu fixé.

Les *vacuoles* sont fréquentes dans la masse protoplasmique. On peut en trouver une seule au centre ou près du centre, d'autres fois reportée à une extrémité; ou bien, il en existe plusieurs, disposées à la file, en chapelet. Il est des espèces où on les observe couramment, chez le *Spirillum undula* par exemple, comme l'a montré Zetnow (1), chez les *Bacillus Zopfii*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*. Elles peuvent ne se trouver parfois que dans de vieilles cultures, ou lorsque les microbes paraissent souffrir : elles sont alors probablement l'indice d'une dégé-



Fig. 10. — *Bacille du charbon.*

Formation de vacuoles et granulations protoplasmiques (d'après Fischer.)





Fig. 11.

A, *Bacille typhique*; B, *Spirille du choléra*. Vacuoles et granulations protoplasmiques, (d'après Fischer.)

nérescence. D'autres fois ces espaces clairs paraissent nettement artificiels, dus à l'action de la chaleur ou des réactifs chimiques; le protoplasma contracté forme deux ou plusieurs masses rondes séparées par des intervalles hyalins ou très peu colorés. Ces masses rondes font l'effet de diplocoques ou de coccus en chapelet et ont été souvent prises pour tels; on en a de même fait des spores.

Il semble difficile de ne pas attribuer la signification de *noyau* à certaines des granulations contenues dans le protoplasma, qui se distinguent, comme je l'ai déjà dit plus haut, par leur réfringence et leur façon de se comporter à l'égard de certains colorants. On peut ne trouver qu'un noyau, arrondi ou plus ou moins allongé; il semble même pouvoir jouer un rôle dans la division des éléments (2) et se trouve alors d'ordinaire vers le centre de l'élément. Ou bien il y en a réellement plusieurs; la substance nucléaire serait disséminée dans la masse protoplasmique où elle formerait de petits amas de nombre et de volume variables. Le fait est du reste signalé chez beaucoup de Champignons inférieurs. Cette division du noyau en plusieurs masses peut même dépendre des conditions de vie; Bouin (3) a montré que chez les Levures

(1) Zetnow, Ueber den Bau der grossen Spiritten (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIV, 1897, p. 72).

(2) Wagner, Coliund Typhus-Bakterien sind einkernige Zellen (*Centralbl. für Bakt*, XXIII, 1898, p. 433 et 489).

(3) M. Bouin, Contribution à l'étude du noyau des Levures (*Arch. d'Anat. micr.*, I, 1898).

le noyau, normalement unique, se segmentait sous l'influence d'une concentration exagérée du milieu nutritif, d'un manque d'aliments minéraux ou d'une élévation de température.

A côté du noyau se trouvent souvent d'autres *granulations*. Certaines ont la propriété de prendre sous l'influence de divers réactifs colorants, particulièrement les couleurs bleues d'aniline, une coloration rouge-caractéristique; en abaissant l'objectif, elles apparaissent d'un rouge-rubis brillant et prennent une teinte bleutée quand on l'élève; avec une mise au point très exacte, elles semblent formées d'une substance vitreuse incolore. Parfois le même aspect s'observe sans faire intervenir de réactifs. On a donné le nom de *grains rouges* à ces inclusions. Ernst, qui les a signalés le premier, en faisait des noyaux; ils peuvent cependant être indépendants des noyaux vrais. Ils sont situés de préférence aux extrémités des éléments ou autour des vacuoles. Les *corpuscules métachromatiques* signalés par Babès chez plusieurs espèces paraissent être de même nature (p. 21, note 2).

D'après Künstler et Busquet (1), la coloration ainsi observée serait due à un phénomène physique et non à une affinité spéciale pour les réactifs colorants. Beaucoup de Bactéries ne montrent jamais de ces grains rouges et, d'un autre côté, on trouve des granulations semblables chez des Oscillaires, des Saccharomycètes, des Mucorinées, des Flagellés, des Sporozoaires et des Infusoires ciliés, se montrant toujours en indépendance très nette du noyau.

La masse du *protoplasma* est formée de matières albuminoïdes; en faisant agir l'iode, on observe une coloration jaune bien nette. Il arrive souvent qu'il renferme d'autres substances.

Dans certains cas, le protoplasma, trouble, grisâtre, semble contenir des granulations graisseuses qui lui donnent son apparence. L'analyse chimique des Bactéries indique, en effet, souvent la présence de graisse.

Chez les *Beggiatoa* qui vivent dans les eaux thermales sulfureuses et dans toutes les eaux qui contiennent de l'hydrogène sulfuré, et qui sont parfois encore rangées parmi les Bactéries, on trouve, dans l'intérieur de la cellule, de fins granules qui souvent y sont en très grande abondance. Leur biréfringence dans la lumière polarisée paraît démontrer nettement leur nature cristalline. Parmi les autres caractères, leur solubilité dans l'alcool absolu et le sulfure de carbone indique qu'ils sont formés de soufre. Les filaments jeunes et minces n'en possèdent pas encore; ce soufre est une véritable réserve accumulée à certains moments dans le protoplasma.

Certaines granulations protoplasmiques se colorent en rouge brun par le chloro-iodure de zinc; elles semblent par là être formées de glycogène.

L'iode teint en bleu le protoplasma de plusieurs espèces (*Bacillus butyricus*, *Bacillus Pasteurianus*, *Spirillum amyliferum*, *Sarcina ventriculi*). Cette coloration est due à la présence d'amidon soluble dissous dans le protoplasma. Le phénomène ne s'observe parfois qu'au moment de la formation des spores. Dans les bâtonnets de *Bacillus buty-*

(1) Kunstler et Busquet, Recherches sur les grains rouges (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 9 décembre 1897).

ricus, la matière amylacée, dont on suit pas à pas le développement avec l'eau iodée, se montre d'abord aux deux extrémités, puis au milieu, et enfin dans tout le protoplasma ; quand la spore se forme, l'amidon disparaît de l'endroit où elle va se former. Cet amidon est, sans aucun doute, une matière de réserve destinée à subvenir aux besoins nutritifs spéciaux qui se font sentir au moment de la formation de la spore.

Presque toutes les Bactéries, vues isolées, paraissent incolores. En amas, cependant, elles présentent d'habitude une teinte bien nette ; certaines, dénommées pour cette cause *Bactéries chromogènes*, sont vivement colorées; les autres n'ont qu'une nuance blanchâtre ou jaunâtre. Même dans le premier cas, une cellule isolée paraît incolore, à cause de sa petitesse. Parfois la coloration paraît due au protoplasma: on peut quelquefois s'en rendre compte dans les espèces de grande taille, surtout chez les Beggiatoacées colorées, où le microscope fait aisément voir des granulations colorées. Chez d'autres, la matière colorante semble imprégner seulement la membrane et surtout la couche gélatineuse externe. Ces pigments peuvent sortir des cellules et se répandre dans le milieu ambiant, qu'ils colorent d'une manière plus ou moins uniforme. Cette diffusion semble se produire dans des conditions normales pour certaines espèces ; ou bien, pour d'autres, ne se montrer que dans des conditions anormales de nutrition ou après la mort des cellules; elle peut dépendre aussi des conditions de solubilité du pigment.

Les nuances de ces pigments sont très variées. Le rouge plus ou moins rosé s'observe fréquemment; les *Micrococcus prodigiosus*, *Micrococcus roseus*, *Spirillum rubrum*, *Bacillus rosaceus metalloides*, montrent différentes teintes de cette couleur. Les *Sarcina lutea*, *Micrococcus pyogenes aureus*, *Bacillus luteus*, *Micrococcus aurantiacus*, donnent du jaune pur au jaune orangé. Le bleu s'observe plus rarement ; le *Bacillus indigonaceus*, le *Bacillus indigoferus* produisent un pigment bleu foncé; le Bacille du lait bleu, *Bacillus syncyanus*, peut teindre parfois rapidement en bleu de ciel des masses assez considérables de lait ; le *Bacillus pyocyaneus* colore le pus en gris verdâtre et sécrète une matière colorante d'un beau bleu. Le *Bacillus violaceus* forme à la surface des milieux solides une épaisse membrane colorée en violet noir. Un pigment vert a été décrit par Van Tieghem (1), chez deux espèces, qu'il a nommées pour ce fait *Bacterium viride* et *Bacillus virens* ; Engelmann (2) a étudié aussi une Bactérie verte, qu'il désigne sous le nom de *Bacterium chlorinum*. Ces auteurs pensent, sans apporter de preuves à l'appui de leur opinion, que la matière colorante est identique à la chlorophylle, ce dont il est permis de douter. Le *Bacillus chlororaphis* (3) produit dans certains milieux des houppettes cristallines d'un très beau vert. D'autres espèces paraissent pouvoir produire plusieurs pigments ou tout au moins donnent des nuances plus ou moins différentes, selon leurs conditions de vie.

Le mode de formation de ces pigments est peu connu. Les espèces ne semblent les produire que dans certaines conditions, et pas dans

(1) Van Tieghem, Observations sur les Bactériacées vertes (*Bull. de la Soc. Bot. de France*, 1880, p. 174).

(2) Engelmann, Zur Biologie der Schizomyceten (*Bot. Zeit.*, 1882).

(3) Guignard et Sauvageau, Sur un nouveau microbe chromogène, le *Bacillus chlororaphis* (*Soc. de Biol.*, 22 décembre 1894).

d'autres, tout en se développant aussi bien. Le *Bacillus syncyanus* ne développe aucune matière colorante dans les solutions sucrées; le *Bacillus violaceus* donne souvent dans la gélatine, qu'il liquéfie, une culture blanche, ne montrant qu'une très faible nuance violette aux bords où la masse subit un commencement de dessiccation. Nous verrons, du reste, que cette propriété de produire du pigment est une fonction tout à fait contingente, que l'espèce peut perdre dans des conditions données sans grand inconvénient. Il était toutefois bon de la signaler ici, lors de l'étude morphologique du protoplasma.

La nature et la composition chimique de ces pigments n'est pas établie. Ils ne s'isolent la plupart du temps que très difficilement et en quantité trop minime. Certains d'entre eux semblent se rapprocher des couleurs d'aniline par les propriétés optiques de leurs solutions; d'autres, des matières colorantes connues sous le nom de *lipochromes*.

La matière colorante des *Beggiatoacées roses* a été isolée et étudiée par Ray Lankester (1), qui a donné à ce pigment, tantôt rose rouge, tantôt couleur fleur de pêcher ou violet intense, le nom de *bactériopurpurine*. Elle est insoluble dans l'eau, l'alcool, le chloroforme, l'ammoniaque, les acides acétique et sulfurique. L'alcool bouillant fait virer sa teinte au brun. Elle montre, au spectroscope, des bandes d'absorption toutes spéciales : une large bande dans le jaune près de la raie D de Fraunhofer; deux faibles dans le vert, près des raies E et *b* ; une faible dans le bleu, près de la raie F ; puis, à partir de la raie G, un assombrissement de la partie la plus réfrangible du spectre. En se basant sur l'analyse spectrale, on devrait plutôt rapprocher la bactériopurpurine de l'alizarine ou de la purpurine que des rouges d'aniline, comme on l'a fait tout d'abord. La teinte varie beaucoup, suivant l'âge et l'activité de la cellule ; elle passe du rose clair au pourpre violet. Elle tourne au brun après la mort de l'élément. Certains pigments des Bactéries semblent voisins de cette substance ou même identiques à elle.

La matière colorante formée par le *Bacillus pyocyaneus* a été plus complètement étudiée. C'est l'espèce qui occasionne le phénomène du *pus bleu*, bien connu des chirurgiens. Fordos (2) a, le premier, isolé le pigment bleu, la *pyocyanine*, à l'état pur, en traitant par l'eau ammoniacale les linges de pansement bleuis par la sécrétion. Le liquide, agité avec du chloroforme, lui cède la pyocyanine que l'on obtient cristallisée par évaporation du dissolvant. Après purification, les cristaux affectent des formes variables. Le plus souvent, ce sont des lamelles rectangulaires ou de longues aiguilles isolées ou réunies en faisceaux, en aigrettes ou en étoiles; parfois ce sont des octaèdres ou des tables rhombiques ou hexagonales. Les cristaux présentent une teinte bleue. Les amas de cristaux sont d'un bleu foncé terne, rappelant l'indigo. Cette pyocyanine a été étudiée depuis très complètement par Gessard (3) qui en a précisé les caractères. D'après lui, c'est une base que les réactions rapprochent des ptomaïnes. L'air, les substances réductrices, la trans-

(1) Lankester, On a peach coloured Bacterium (*Quarterly Journal of Micr. science*, vol. XIII, 1873). *Id.*, Further Observations on a peach or red coloured Bacterium (*Ibid.*, vol. XVI, 1876).

(2) Fordos, Recherches sur la matière colorante des suppurations bleues : pyocyanine (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1860, t. LI, p. 215).

(3) Gessard, De la pyocyanine et de son microbe. Thèse de Paris, 1882.

forment en une matière colorante jaune, déjà signalée par Fordos, la *pyoxanthose*. Les rapports du pigment avec la Bactérie ont été établis sur des bases certaines au moyen de cultures pures de l'espèce isolée du pus bleu. D'autres de ces pigments seraient à regarder comme des matières grasses (1). De plus amples détails seront donnés plus loin, au chapitre consacré à l'étude biologique des Bactéries chromogènes.

3. Formation des Zooglées.

La couche externe gélifiée de la membrane de bien des espèces peut se gonfler énormément, en absorbant de l'eau, de façon à occuper plusieurs fois son volume primitif. Il se forme ainsi une sorte de gelée entourant les éléments, qui sont réunis en un point, constituant des amas plus ou moins considérables que l'on appelle des *colonies*. Cette formation de gelée est plus ou moins forte suivant l'espèce et les conditions vitales. Dans une même colonie, ces gaines de matière visqueuse des individus voisins se touchent et peuvent se fusionner, de manière à constituer une masse fondamentale homogène dans laquelle sont enfouis les éléments, ou qui, peu abondante, les retient seulement accolés les uns à côté des autres, formant de la sorte des amas muqueux d'aspect et de dimensions variables, suivant l'espèce qui les constitue. Ces amas sont des *Zooglées*.

Le mode d'union dépend, pour beaucoup, du degré de diffluence du substratum. Certaines espèces, cultivées dans des milieux liquides, se répandent dans toute la masse, à cause du peu de consistance de la partie gélifiée ; on peut alors arriver à leur faire former des Zooglées compactes et de forme déterminée, en les cultivant sur des milieux solides. On rencontre, du reste, tous les intermédiaires entre les espèces dont les éléments semblent parfaitement isolés les uns des autres et celles où les cellules forment par leur réunion des masses mucilagineuses solides et bien déterminées.

On observe fréquemment, dans les fabriques de sucre, des masses gélatineuses hyalines, mamelonnées, de consistance élastique, qui se développent rapidement dans les cuves où l'on recueille les jus de betterave ou les sirops cuits. La forme et l'apparence leur ont fait donner, en France, le nom vulgaire de *Gommes de sucreries*, et, en Allemagne, celui de *Frai de grenouille* (*Froschlaich*) (2). Ce sont les Zooglées d'une espèce de Bactéries à cellules sphériques, le *Leuconostoc mesenteroides* (fig. 12, *10*). Les cellules forment des chapelets enfermés dans une épaisse gaine de gelée de consistance assez ferme, presque cartilagineuse. Les cylindres ainsi constitués se serrent les uns contre les autres en s'enveloppant dans leurs sinuosités et arrivent à former des masses irrégulières pouvant atteindre des dimensions beaucoup plus grandes que celles données par la figure. C'est un type bien net de Zooglée.

Les habitants du haut Caucase préparent une boisson acidule, très

(1) Overbeck, Zur Kenntniss der Fettfarbstoffproduktion bei Spaltpilzen (*Nova Acta d. Kais. Leop. Car. Deutsch. Acad. d. Naturf.*, IV, 1891).

(2) Van Tieghem, Sur la gomme de sucreries (*Ann. des sc. nat.*, *Bot.*, 6e série, t. VII, p. 180). — Cienkowski, Die Gallertbidungen des Zuckerrübensaftes. Charkow, 1887.

usitée comme aliment et comme médicament sous le nom de *kéfyr*, en soumettant le lait à l'action d'un ferment spécial, connu dans ces pays sous le nom de *Grains de kéfyr*. Ces *Grains* sont formés, en majeure partie, par les Zooglées d'une Bactérie, nommée *Bacillus caucasicus* par certains observateurs. Ce sont de petites masses d'un gris jaunâtre, dont

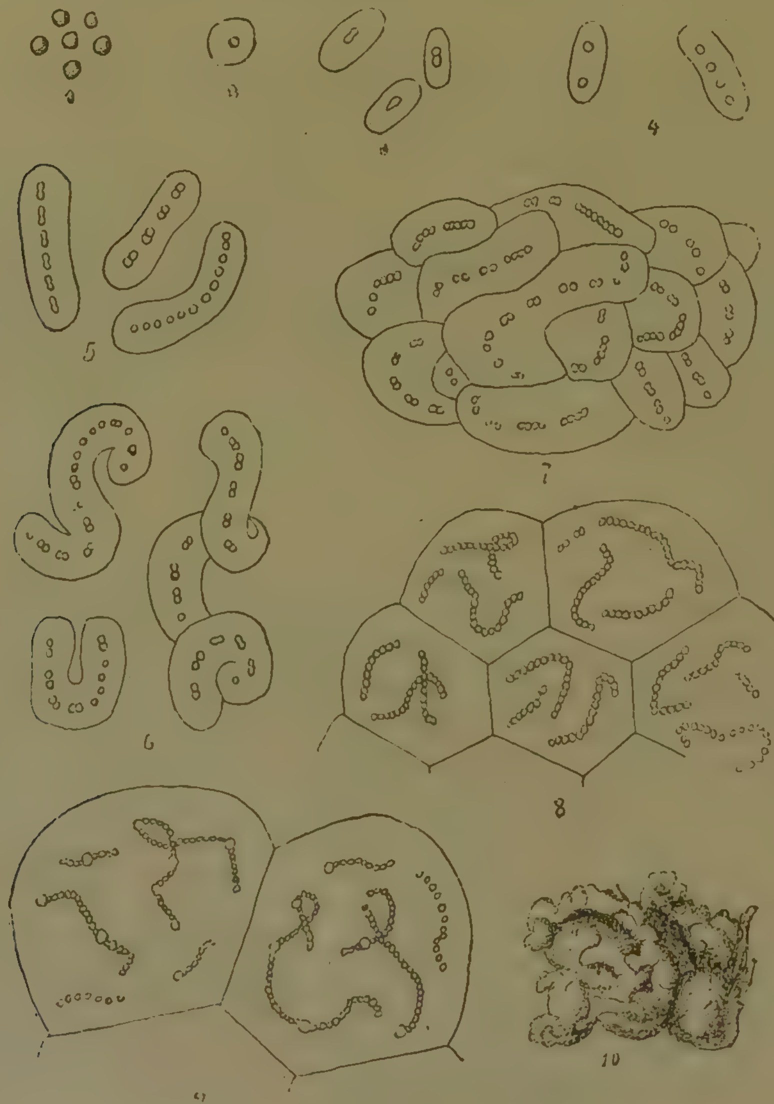


Fig. 12. — *Leuconostoc mesenteroides*.

10, Aspect d'une Zooglée (grandeur naturelle); *1-9*, détails de la Zooglée (d'après Van Tieghem).

l'aspect et la consistance rappellent assez bien des petites boulettes de mie de pain pétrie et séchée. La grosseur varie de celle d'une petite tête d'épingle à celle d'une noisette ; la surface en est tantôt lisse, tantôt mamelonnée. Elles se laissent assez facilement couper au rasoir, lorsqu'elles ne sont pas trop durcies ; leur consistance est alors celle du cartilage desséché. La matière muqueuse, produite par la Bactérie, englobe dans sa masse de nombreuses cellules d'une Levure, qui joue un rôle important dans la fabrication de la boisson. De plus amples détails seront donnés lors de l'étude spéciale du *Bacillus caucasicus*.

Beaucoup de Bactéries chromogènes forment sur les matières nutritives solides des Zooglées à teintes très vives. Souvent sur le blanc d'œuf cuit ou les matières amylacées cuites, exposés à l'air, il apparaît, après quelques jours, de petites taches lenticulaires, d'abord rosées, puis devenant d'un rouge-sang en grandissant. Ces petits disques à bords nets, d'aspect huileux, sont les Zooglées du *Micrococcus prodigiosus*.

La forme de la Zooglée peut du reste varier, et dans des limites assez larges pour une espèce, suivant le milieu où elle se développe et surtout suivant que ce milieu est un solide ou un liquide. Le développement de certaines espèces dans les liquides est parfois curieux à connaître et peut apporter de précieux éléments de détermination.

Beaucoup de Bactéries en spirale ou en longs filaments forment dans les liquides des flocons, plus ou moins résistants, constitués par l'enchevêtrement des éléments les uns dans les autres. Les cellules sont parfois réunies en plus par de la matière muqueuse, qui donne plus de consistance à la Zooglée (fig. 13).

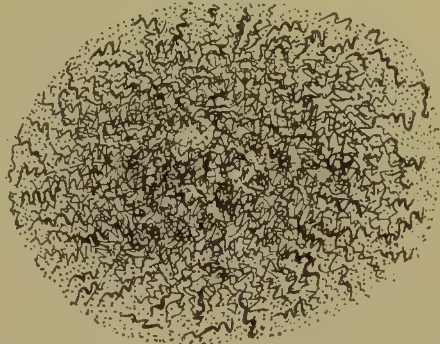


Fig. 13. — Zooglée de Spirilles, 500/1 (d'après Cohn).

Le *Bacillus aceti* et le *Bacillus subtilis* se développent à la surface des liquides de culture en y constituant une membrane à laquelle on donne, d'une façon générale, le nom de *voile* ou de *mycoderme*. Le premier forme une peau blanche, épaisse, à surface lisse, de consistance dure, même presque cartilagineuse, que tout le monde connaît sous le nom de *Mère de vinaigre*. Le second donne, sur les bouillons, une pellicule grisâtre, épaisse, ridée, se divisant en lambeaux par l'agitation.

Le *Bacillus anthracis*, la Bactérie du *charbon* de l'homme et des animaux, se développe en un voile très incomplet et limité à la périphérie de la surface liquide ; ce voile se détache par petites portions, qui tombent en flocons blanchâtres dans la masse du liquide. Ces flocons nagent quelque temps dans le milieu, sans en troubler la transparence, puis se déposent au fond en un sédiment blanc.

D'autres espèces, *Bacillus butyricus* et *Bacterium termo*, par exemple, semblent ne pas former de pellicule à la surface ou n'en donner qu'une très mince, et envahissent toute la masse liquide, qu'ils troublent d'une façon alors uniforme.

Une Bactérie que l'on observe dans des solutions salines, l'*Ascococcus Billrothii*, présente un mode tout spécial de formation de Zooglée. La matière mucilagineuse n'englobe pas chaque élément en l'isolant des autres sur une partie de sa longueur ; les cellules, au contraire, se rapprochent et s'accolent pour former de petites masses rondes ou ovoïdes. La gelée excrétée vient entourer chacune des nombreuses colonies d'une épaisse coque transparente (fig. 14). Il peut en être de même des espèces décrites sous le nom générique d'*Ascobacterium*.

C'est, en somme, sur ce dernier type que se forment les couples ou les tétrades de diverses Bactéries dites *capsulées*, telles que le *Pneumocoque*, le *Micrococcus tetragenus* ; ces couples ou ces tétrades peuvent

représenter de petites Zooglées à coque seulement extérieure comme celle de l'*Ascococcus*.

On voit, par les détails qui précèdent, quelles nombreuses variétés on



Fig. 14. — *Ascococcus Billrothii*, 65/1 (d'après Cohn).

rencontre dans le mode de groupement des différentes espèces en Zooglées, et quels importants caractères on en peut tirer pour arriver à leur détermination.

4. Motilité.

Nous savons déjà que beaucoup de Bactéries possèdent la propriété de se mouvoir librement dans les liquides et de se transporter ainsi, plus ou moins vite, parfois lentement, parfois très vite, d'un point à un autre. C'est un des caractères qui avaient le plus frappé les anciens observateurs. Certaines traversent comme des flèches le champ du microscope ; il peut même être difficile, dans ce cas, de les examiner à loisir. D'autres sont animées d'un mouvement de déplacement lent. Le mouvement peut alors, le plus souvent, être décomposé en deux : un mouvement d'oscillation autour d'un axe idéal perpendiculaire à l'axe longitudinal et un mouvement de translation suivant cet axe longitudinal. Pour beaucoup, le premier de ces mouvements est remplacé par un mouvement de véritable oscillation pendulaire, la Bactérie semblant fixée par une extrémité, tandis que l'autre décrit une portion de circonférence. Dans d'autres cas, les filaments s'avancent en tournant autour de leur axe longitudinal. Cette sorte de mouvement s'observe surtout chez les formes spiralées ; la spirale tourne, comme un tire-bouchon, autour de l'axe de l'hélice qu'elle décrit. A ce mouvement, qui est parfois très vif, s'en joint, dans certaines espèces en spirale, un autre d'ondulations semblables à celles du corps d'un serpent ; Ehrenberg avait distingué ces formes des autres spiralées et avait établi pour elles son genre *Spirochæte*. Dans la préparation de Bactéries mobiles, à côté des individus qui se meuvent, il y en a d'autres absolument immobiles : ceux-ci adhèrent à la lamelle ou entre eux, ou sont des cellules mortes.

Les formes sphériques, les *Micrococcus*, présentent souvent un mouvement net et régulier, ressemblant à une sorte de trépidation, que l'on

peut confondre avec les phénomènes du *mouvement brownien*. On sait que l'on désigne par ce terme une agitation observée fréquemment lorsqu'on examine au microscope, à de forts grossissements, des granulations de différentes sortes et de diamètre très réduit, de un à quelques millièmes de millimètre, en suspension dans un liquide. Les causes en sont peu connues. Les agents physiques, la chaleur et l'électricité surtout, les courants osmotiques contribuent certainement, mais pour une part variable et non encore déterminée, à la production de ce phénomène. Sa caractéristique est d'être influencé, dans de très larges limites, par ces mêmes causes auxquelles on l'attribue. La chaleur, par exemple, l'accélère toujours. Il paraît, au contraire, résister complètement à l'action des agents chimiques qui ont le pouvoir reconnu de diminuer ou d'arrêter les mouvements d'origine vitale. C'est ainsi que des substances coagulantes très énergiques, l'acide osmique, l'alcool absolu, les acides minéraux concentrés, détruisent rapidement toute contractilité dans les cellules avec lesquelles elles sont mises en contact direct ; elles peuvent au contraire n'avoir aucune action sur des granulations inorganiques ; l'augmentation des courants de diffusion dans les liquides avec lesquels elles se mêlent pourrait même augmenter cette trépidation brownienne. Il est à noter que pour observer l'action des réactifs chimiques, il faut laisser s'écouler un temps variable suivant la facilité avec laquelle le liquide actif peut arriver par diffusion jusqu'à la portion contractile, le protoplasma, des éléments sur lesquels on le fait agir.

Le mouvement brownien s'observe peut-être moins souvent qu'on n'est porté à le croire dans les préparations microscopiques de Bactéries dans des liquides. Lorsqu'on a affaire à des espèces manifestement immobiles de l'accord de tous, soit Micrococcus, comme *Micrococcus ureæ*, soit Bacilles, comme *Bacillus anthracis*, on a beau faire usage de liquides de différente densité et de différente composition, l'immobilité est toujours bien évidente ; il faut, naturellement, mettre de côté les mouvements purement accidentels, dus aux courants du liquide ou à son évaporation. De nombreuses espèces présentent, au contraire, dans les mêmes conditions, un mouvement lent et obscur, mouvement de trépidation manifeste, ne semblant pas servir au déplacement des éléments, puisque chacun d'eux revient, après une sorte d'oscillation, à la place qu'il occupait avant. Ces derniers mouvements, isochrones, réguliers, s'observant quelle que soit la nature du liquide où les cellules sont en suspension, doivent être évidemment distingués du mouvement brownien et considérés comme une manifestation, bien obscure il est vrai, de la vitalité des éléments qui le présentent.

Ce sont, parmi les caractères de cette classe d'êtres, les mouvements qui avaient surtout frappé les premiers observateurs. Ils y voyaient une preuve irréfutable de la nature animale des Bactéries. Lorsque Davaine (1), en étudiant la *Bactérie du charbon*, remarqua qu'elle restait immobile dans tous les stades où il observait, il se crut obligé de créer, pour cette espèce, un nouveau genre, le genre *Bacteridium*,

(1) Davaine, Recherches sur les Infusoires dans la maladie connue sous le nom de sang de rate (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1863, t. LVII, p. 320). Réimprimé dans « l'Œuvre de Davaine ». Paris, 1889, 1 vol. in-8.

différant des genres *Bacterium* et *Bacillus* par l'absence complète de motilité.

Le genre *Bacteridium* et l'opinion de son savant auteur ont dû céder devant l'observation d'un grand nombre d'espèces tout aussi immobiles et d'autres qui, mises dans des conditions de vie spéciales ou arrivées à certains stades de leur développement, présentent, à côté d'une période d'immobilité absolue, des phases de motilité bien évidente. Beaucoup d'espèces mobiles deviennent inertes lorsqu'elles vont produire des spores. Chez d'autres, très nombreuses, les cellules qui, isolées, présentent un mouvement très vif, restent complètement immobiles lorsqu'elles sont réunies en Zooglées compactes. C'est ce qui s'observe facilement dans les cultures de *Bacillus subtilis* dans les milieux liquides; les bâtonnets, épars dans le bouillon, sont très mobiles ; ceux qui forment le voile caractéristique à la surface sont, au contraire, tout à fait immobiles. Aussi, lorsqu'on veut examiner une parcelle de colonie à ce point de vue, est-il plus sûr de la délayer dans une petite quantité de bouillon et d'attendre quelque temps avant de se prononcer.

Le degré de motilité peut dépendre de la fluidité du liquide. Dans l'eau, elle est à son maximum ; quand le liquide devient plus dense, elle diminue de plus en plus pour cesser tout à fait lorsque le substratum devient solide. Elle reprend par addition d'eau. Les mouvements se montrent encore dans des milieux très visqueux comme la gélatine au voisinage de son point de solidification ; ils existent même, quoique amoindris, dans la gélatine solidifiée, ce qui peut donner la raison de bien des détails de cultures dans ce milieu.

Les mouvements s'effectuent souvent indifféremment dans un sens et dans l'opposé ; il ne semble pas y avoir d'extrémité antérieure et d'extrémité postérieure dans le mouvement.

Certains agents physiques ont une grande influence sur la motilité. L'oxygène est souvent nécessaire ; si l'on fait une préparation microscopique de certaines espèces très mobiles, dans un liquide neutre, on peut se rendre compte qu'après quelque temps les Bactéries du centre sont toutes immobiles; celles des bords, au contraire, trouvant facilement de l'oxygène, restent actives ; en lutant la préparation, on peut faire disparaître tout mouvement. La chaleur semble activer la motilité dans de certaines limites ; à un degré plus élevé, elle l'abolit ; la mort survient un peu plus haut. La lumière a, parfois, une action bien évidente ; le *Bacterium photometricum*, d'après Engelmann (1), n'est mobile que sous l'influence de radiations d'une certaine intensité ; il en serait de même du *Bacille violet* d'après Marshall Ward (2). Les mouvements déterminés par ces conditions physiologiques passent la plupart du temps inaperçus ; les Bactéries avides d'oxygène se dirigent lentement vers l'endroit où ce gaz afflue ; d'autres, sensibles à la lumière, se rapprochent d'un rayon lumineux, mais si doucement que la progression échappe à l'observateur. Ces phénomènes de motilité, provoqués par les besoins vitaux, doivent, en toute probabilité, être distingués des mouvements vrais ; ils s'observent fréquemment chez

(1) Engelmann, Untersuchungen aus des phys. Laborat. zu Utrecht. Bacterium photometricum, 1882.

(2) Marshall Ward, A Violet Bacillus from the Thames (*Ann. of Bot.*, mars 1898).

des espèces manifestement immobiles dans les conditions normales d'existence.

Par analogie avec ce que l'on connaît en toute certitude chez beaucoup d'êtres inférieurs, Monades, Algues, Infusoires, on a été porté à attribuer la cause des mouvements des Bactéries à la présence de *cils vibratiles* très fins dont le tourbillonnement occasionnerait le déplacement de la masse de la cellule.

Ehrenberg (1), en 1833, a signalé, chez une espèce qu'il n'a pas suffisamment définie pour permettre de la reconnaître, son *Bacterium triloculare*, la présence d'une trompe filiforme, tourbillonnante, située à une extrémité de chaque bâtonnet. Cohn (2) figure plus nettement un long cil à chaque bout de la spire du *Spirillum volutans*. Koch est parvenu à voir et photographier les cils vibratiles de plusieurs espèces après dessiccation et coloration avec une solution aqueuse d'extrait de bois de Campêche. Il en donne d'excellentes reproductions dans un important mémoire publié en 1877 (3). Ils ont été aperçus depuis par d'autres observateurs sur les mêmes espèces ou sur des différentes. Dallinger et Drysdale (4) les ont décrits chez les *Bacterium termo*, où ils ont pu les étudier à l'aide de grossissements considérables. Plus tard, Künstler (5) a appliqué au *Spirillum tenue* une méthode de coloration qui montre, avec grande évidence, selon lui, les cils vibratiles de cette espèce. Il mélange, sur une lame porte-objet, une goutte de l'infusion qui contient la Bactérie, une goutte de solution d'acide chromique à 1 p. 100 et une goutte de solution de noir Collin ; la préparation, recouverte d'une lamelle, est lutée à la cire. En huit ou quinze jours, la coloration des Spirilles est intense ; on distingue facilement à une extrémité de chacun d'eux cinq ou six longs cils, disposés en bouquet. Ce procédé est probablement applicable à d'autres espèces. Il pourrait alors donner de meilleurs résultats que celui de Koch, qui conseille de colorer avec une solution aqueuse concentrée d'extrait de bois de Campêche. La coloration se fait en déposant une goutte de la solution sur la lamelle préparée par dessiccation ; après lavage, la pellicule est teinte en rouge sale. La couleur disparaît très facilement par l'alcool, l'eau, les liquides conservateurs ordinaires. Aussi Koch recommande-t-il de traiter d'abord par une solution chromique, liqueur de Müller ou acide chromique à 5 p. 1 000. Il se forme un composé brun noirâtre beaucoup plus fixe. On lave à l'eau et on peut alors conserver dans la glycérine ou le baume.

Loeffler (6) a donné la description d'une excellente méthode de coloration permettant d'obtenir des préparations où les cils s'observent

(1) Ehrenberg, Die Infusionsthierchen. Berlin, 1833.

(2) Cohn, Untersuchungen ueber Bacterien (*Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, I, 2e p. p. 127).

(3) Koch, Untersuchungen ueber Bacterien (*Ibid.*, II, 3e p.).

(4) Dallinger et Drysdale, On the existence of flagella in Bacterium termo (*The Monthly Microscopical Journal*, 1875).

(5) Kunstler, Contribution à la technique des Bactériacées (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1884, CV, p. 684).

(6) Loeffler, Eine neue Methode zum Farben der Mikroorganismen imbesonderen ihrer Wimperhaare und Geisseln (*Centralbl. für Bakt. und Parasit.*, 1889, VI, nos 8-9). — *Id.* Weitere Untersuchungen ueber die Beizung und Färbung der Geisseln bei den Bakterien (*Ibid.*, 1890, VIII, no 20).

avec une grande netteté. Il a publié en même temps toute une série de belles représentations photographiques montrant ces organes chez diverses espèces mobiles. Il soumet d'abord les préparations de Bactéries, fixées par la chaleur, comme nous le verrons plus loin, à l'action d'un mordant, qui est le tannate de fer, puis fait agir en même temps le réactif colorant. A 10 centimètres cubes d'une solution de tannin, formée de 80 centimètres cubes d'eau distillée et 20 grammes de tannin, on ajoute 5 centimètres cubes d'une solution saturée à froid de sulfate ferreux et 1 centimètre cube d'une solution aqueuse ou alcoolique de fuchsine, violet d'aniline ou noir d'aniline. On additionne ensuite ces 16 centimètres cubes d'une quantité variable, de 1 goutte à 40 gouttes, d'une lessive de soude à 1 p. 100. Pour déterminer la meilleure proportion de la solution alcaline, il est nécessaire de tâtonner un peu, suivant l'espèce que l'on veut observer. Voici les résultats obtenus par Loeffler pour quelques espèces : les cils des *Bactéries du choléra* se colorent au mieux après addition de 1/2 à 1 goutte de la lessive de soude ; ceux du *Spirillum rubrum* avec 9 gouttes ; ceux du *Bacille typhique* avec 20 gouttes, ceux du *Bacillus subtilis* avec 28 à 30 gouttes ; ceux du *Bacille de l'œdème malin* avec 36 à 37 gouttes. Les cils du *Spirillum concentricum* se teignent au bain colorant sans aucune addition de la solution alcaline. Nous reviendrons, du reste, plus loin, sur les procédés de coloration des cils, lorsque nous étudierons les réactifs colorants (Voy. *Coloration des cils*).

On est loin d'avoir découvert les cils vibratiles chez toutes les espèces mobiles. Leur absence chez des Bactéries de grande taille, où ils devraient être bien visibles s'ils existaient, doit faire penser qu'ils ne sont pas les organes exclusifs du mouvement. La contractilité du protoplasma joue certainement un grand rôle dans les phénomènes de motilité. Le protoplasma en se contractant entraîne la membrane, la cellule se déplace. Le même fait se trouve, du reste, chez des Algues manifestement dépourvues d'organes locomoteurs, les Oscillaires, les Diatomées, les Desmidiées, où les mouvements ne peuvent être attribués qu'à la contractilité protoplasmique.

La nature de ces cils a été contestée. Van Tieghem, se fondant surtout sur la difficulté de leur coloration par les réactifs qui teignent si rapidement le protoplasma, fait de ces prolongements de simples dépendances de la membrane, dépourvues de toute contractilité et partant de tout pouvoir locomoteur. Lorsque deux cellules, issues de la division d'un même élément, se séparent, la portion commune de la membrane, au lieu de se scinder nettement en deux, peut se laisser étirer en un filament qui se rompt plus ou moins près de chacune des deux cellules filles ; c'est ce prolongement qui constituerait le cil vibratile (1). Le fait de la résistance des cils aux matières colorantes ordinaires ne suffit pas pour faire nier leur origine protoplasmique ; on sait, en effet, que le protoplasma homogène, celui qui constitue la couche périphérique dépourvue de granulations de beaucoup de cellules, ne présente qu'une affinité très faible pour les matières colorantes, qui teignent au contraire très fortement le protoplasma central. Bütschli a du reste signalé le même fait chez les Infu-

(1) Van Tieghem, Sur les prétendus cils des Bactéries (*Bull. de la Soc. Bot.*, 1879, p. 37).

soires flagellates où les flagellums, très mobiles et en dépendance bien nette du protoplasma cependant, sont excessivement difficiles à colorer. Il serait, en outre, plus difficile d'expliquer la formation de bouquets de cils, décrits chez des Bactéries spiralées. En dernier lieu, ces appendices n'ont, jusqu'alors, jamais été vus à des espèces immobiles. Il est, jusqu'alors, plus rationnel de les considérer comme des cils vibratiles et de leur assigner véritablement une nature protoplasmique.

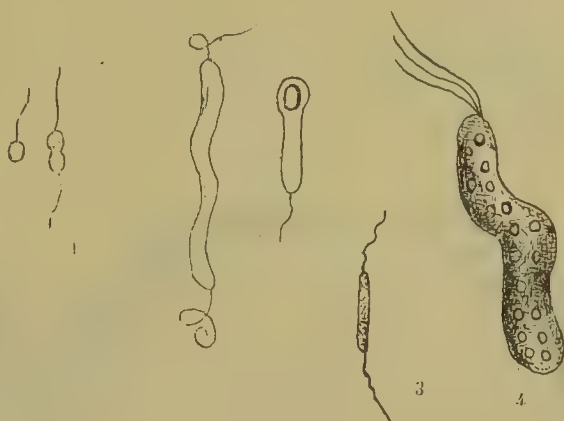


Fig. 15. — Cils vibratiles.

D'après les recherches récentes de ce dernier observateur, les cils seraient en dépendance exclusive de la membrane d'enveloppe. En comprimant fortement sous la lamelle des Bactéries de grande taille, l'espèce connue sous le nom de *Bacterium lineola* entre autres, la membrane éclate à une des extrémités, le contenu s'écoule par l'orifice et laisse l'enveloppe tout à fait vide. En étudiant cette coque avec grande attention, Bütschli a remarqué qu'elle conservait toujours, à une extrémité, le long cil particulier à l'espèce, preuve qu'il n'émane pas directement de



Fig. 16. — *Bacille typhique* avec cils vibratiles.

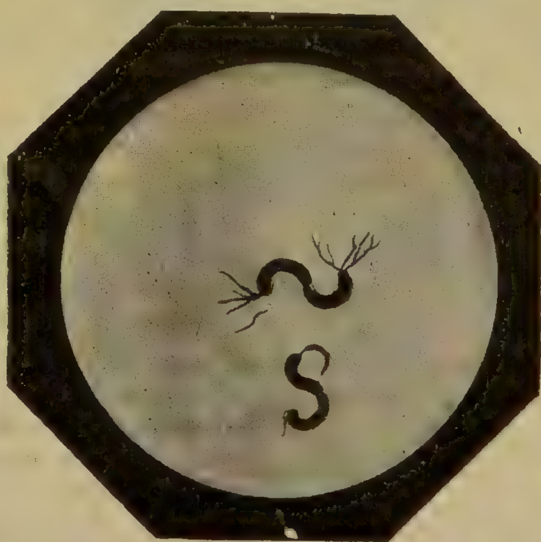


Fig. 17. — *Spirillum undula* avec cils vibratiles.

la masse centrale molle du protoplasma. Des recherches postérieures de Fischer (1) battent en brèche cette manière de voir et tendent à démontrer que les cils sont bien de véritables prolongements du protoplasma, pouvant sortir par de fins orifices de la membrane.

Le nombre et la disposition de ces organes sont variables chez les différentes espèces qui en présentent. Les formes sphériques n'en

(1) Fischer, Untersuchungen über Bakterien (*Jahrb. für wiss. Bot.*, Bd XXVII).

auraient jamais qu'un; les coccus réunis par couples en auraient un à chaque pôle libre (fig. 15, *1*). Les formes en bâtonnets peuvent n'en présenter qu'un, à une extrémité (*Spirillum rugula*, fig. 15, *2*; *Spirille du choléra*, fig. 18), ou deux, un à chaque bout (*Bacillus sublilis*, fig. 15, *3*) ou plus souvent même alors répartis sur toute la surface (fig. 16 et 19). Les Bactéries en spirale en possèdent tantôt un seul à chaque extrémité (*Spirillum undula*, fig. 15, *2*, et fig. 17), tantôt plusieurs en bouquet d'un côté ou des deux (formes spiralées des Sulfuraires roses, fig. 15, *4*; *Spirillum undula*, fig. 18; *Spirilles du choléra*, fig. 17).



Fig. 18. — *Spirilles du choléra* avec cils vibratiles.



Fig. 19. — *Proteus vulgaris* avec cils vibratiles.

La disposition des cils sur les éléments peut servir à établir des coupes parmi les Bactéries. En prenant leurs caractères comme base, Messea (1) a proposé la classification suivante :

I. *Gymnobactéries* : Espèces dépourvues de cils.
II. *Trichobactéries* : Espèces munies de cils.
  1. *Monotriches* : Espèces à un seul cil placé à un des pôles.
    Ex. : *Spirille du choléra*, fig. 18.
  2. *Lophotriches* : Espèces munies d'un faisceau de cils à un des pôles.
    Ex. : *Bacille du lait bleu.*
  3. *Amphitriches* : Espèces munies de cils aux deux pôles.
    Ex. : *Spirillum undula*, fig. 17.
  4. *Péritriches* : Espèces ayant des cils sur toute la surface du corps.
    Ex. : *Proteus vulgaris*, fig. 19.

Si ces caractères ne paraissent pas suffisants pour établir une classification générale, ils n'en sont pas moins précieux et commodes pour la

(1) Messea, Contribuzione allo studio delle ciglia dei batteri e proposta di una classificazione (*Rivista d'Igiene*, I, 1890).

distinction et la description des espèces et les dénominations à conserver.

Lorsque les cils n'existent qu'à une extrémité, cette extrémité est souvent postérieure dans le mouvement.

Lorsque les cellules sont unies en chaînes, les éléments qui se trouvent aux deux bouts sont seuls munis de cils vibratiles à leurs extrémités libres. Ce sont du reste les seuls qui se meuvent activement, les autres suivent simplement l'impulsion qu'ils donnent. Lors de la séparation des éléments unis, les cils apparaissent aussitôt. Ces organes sont d'une grande fragilité; le moindre heurt suffit pour les casser.

A la contractilité de la masse protoplasmique doit être uni un certain degré de flexibilité de la membrane lui permettant de suivre les mouvements, flexibilité des plus marquées chez certaines espèces, particulièrement les anciens Spirochètes. Si au contraire la membrane est rigide, elle emprisonne parfaitement la partie mobile et empêche ainsi toute manifestation extérieure de sa contractilité, qui, on le sait, est une des propriétés inhérentes à tout protoplasma ; la Bactérie est immobile ou se meut uniquement à l'aide de cils, tout en restant rigide. De plus amples détails seront donnés plus loin, lors de l'étude des procédés de coloration des cils.

CHAPITRE DEUXIÈME

BIOLOGIE DES BACTÉRIES

I. — FONCTIONS DES BACTÉRIES

1. Respiration.

Comme tous les êtres vivants, les Bactéries ont un besoin absolu d'oxygène. Elles peuvent prendre ce gaz dans l'air, dissous dans le milieu nutritif, ou à l'état de combinaison peu stable avec certaines substances. Si, par exemple, on colore du lait en bleu, à l'aide de quelques gouttes de solution de carmin d'indigo, et qu'on y sème des Bactéries communes de l'air ou de l'eau, on verra le liquide se décolorer, au fur et à mesure du développement des organismes dans sa masse ; le carmin d'indigo est réduit par les Bactéries qui lui prennent son oxygène (1). En agitant le liquide à l'air, la coloration bleue réapparaît, indice de la pénétration d'oxygène. La *Bactérie du charbon*, se développant dans le sang, enlève l'oxygène à l'oxyhémoglobine et cause ainsi l'asphyxie des tissus; le sang, désoxygéné, prend alors la teinte noirâtre caractéristique.

Il est facile de se rendre compte, par l'examen direct, de ce besoin d'oxygène. Dans une préparation, faite avec une goutte de culture de Bactéries mobiles, *Bacillus subtilis* ou *Bacterium termo*, par exemple, ou, plus simplement, avec une goutte de macération végétale ou ani-

(1) DUCLAUX, Mémoires sur le lait (*Ann. de l'Inst. agron.*, 1882), et Chimie biologique, p. 108. — Voy. aussi : Le lait, étude chimique et microbiologique. 2e édit. Paris, J.-B. Baillière, 1894, 1 vol. in-16.

male où ces formes abondent, on voit, au bout de très peu de temps, toutes les Bactéries mobiles se rapprocher des bords de la lamelle et y former un liséré épais. C'est que là l'oxygène arrive en abondance. Si on lute la préparation à la cire ou à la paraffine, qui empêchent totalement l'accès de l'air, les Bactéries s'amassent autour des bulles d'air que peut contenir le liquide. Après quelques instants, le mouvement cesse au centre, pour ne plus se montrer qu'aux abords des endroits où peut arriver l'air. Dès que l'oxygène manque totalement, toutes ces espèces, très mobiles tout à l'heure, tombent dans un état de mort apparente, qui sera bientôt suivie d'une perte totale de la vie, si la privation d'oxygène continue.

Engelmann (1) a donné une très jolie preuve de cette avidité pour l'oxygène, que possèdent certaines espèces. En faisant tomber un spectre microscopique à l'aide d'un appareil spécial, son *microspectral-objectif*, sur un filament d'Algues vertes que l'on trouve communément dans l'eau, on voit les Bactéries en suspension dans le liquide s'accumuler en deux endroits contre le filament vert. Le plus fort amas est dans le rouge, entre les raies B et C de Fraunhofer ; on trouve un second groupement moins considérable dans la partie la plus réfrangible au delà de la raie F. C'est en effet à ces deux endroits que se trouvent les bandes d'absorption du pigment chlorophyllien et où se limite, dans le spectre, le mode d'activité de ce pigment, décomposition de l'acide carbonique, assimilation du carbone et dégagement de l'oxygène.

Les Bactéries emploient cet oxygène, comme le font toutes les cellules vivantes. Il sert à oxyder, brûler certains principes du protoplasma ; d'où dégagement de forces vives, en rapport direct avec la chaleur produite par la combinaison. Le résidu est de l'acide carbonique, qui se dégage et dont la présence est toujours facile à constater, et de l'eau, qui se mélange au milieu ambiant.

Dans certains cas, l'action est beaucoup plus complexe ; l'absorption d'oxygène est très considérable. L'espèce l'emploie à oxyder directement une grande partie de l'aliment dont elle dispose ; il se forme ainsi un composé nouveau, qui doit être rejeté au dehors de la cellule parce qu'il nuirait à son fonctionnement. La Bactérie de la *Mère du vinaigre*, vivant à la surface de liquides alcooliques, transforme rapidement de grandes quantités d'alcool éthylique en acide acétique. Les *Bactéries nitrifiantes* oxydent l'azote des composés ammoniacaux du sol, et forment des nitrates.

A côté de ces espèces qui ne peuvent vivre sans oxygène libre, ces *aérobies*, comme les a nommées Pasteur, il s'en trouve d'autres qui non seulement n'ont pas besoin pour se développer de trouver de l'oxygène gazeux dans leur milieu, mais que la présence de ce gaz libre empêche de végéter ou tue. Pasteur les a appelées *anaérobies* (2). On peut citer comme type son *Vibrion butyrique*, le *Bacillus butyricus*. Le liquide, qui subit la fermentation lactique, contient, au bout de peu de temps, une quantité de bâtonnets épais et courts de *Bacillus lacticus*. L'espèce, qui

(1) Engelmann, Ueber Sauerstoffausscheidung von Pflanzellen im Mikrospectrum (*Arch. für die gesammte Physiol.*, 1882, vol. XXVII, p. 485).

(2) Pasteur, Infusoires vivant sans gaz oxygène libre (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LII, 1861), et Études sur la bière, 1876, p. 282.

est *aérobie*, trouble uniformément la masse. Lorsque tout l'oxygène du liquide est enlevé, les bâtonnets tombent en état de vie latente, et s'amassent au fond du liquide en un dépôt plus ou moins épais ; il n'en reste en vie active que dans la couche supérieure du liquide, interceptant l'oxygène au passage et empêchant sa diffusion dans les couches sous-jacentes. Alors se développe une autre espèce, manifestement *anaérobie*, qui n'attendait pour se montrer que cette disparition d'oxygène, c'est le *Bacillus butyricus*, agent de la fermentation butyrique type. L'aspect des organismes que l'on trouve dans le liquide est tout autre ; ce sont de grands bâtonnets, ayant une longueur trois fois grande comme celle des précédents et une largeur en proportion. Les phénomènes qui se passent dans le milieu sont aussi bien différents. Il se produit une active production de gaz et une forte odeur d'acide butyrique.

Si l'on examine une goutte de ce dernier liquide, les phénomènes observés sont inverses de ceux que nous ont présentés les *aérobies*. Là où il y avait la vie, est la mort et réciproquement. Les bâtonnets fuient les places où ils peuvent être atteints par l'air ; dans ces endroits, leur mouvement cesse, ils viennent en vie latente ou meurent. La vitalité ne continue à se montrer qu'au centre de la préparation, où l'oxygène ne peut diffuser. Les mêmes phénomènes apparaissent si l'on fait barboter de l'air dans le liquide précédent, en pleine fermentation butyrique.

Il est encore difficile de donner une explication bien nette de ce phénomène qui semble si anormal à première vue. Les recherches déjà anciennes de Pasteur montrent qu'il y a un lien intime entre la vie sans air et la fermentation provoquée. Les *anaérobies* paraissent tous être des agents énergiques de la transformation des matières organiques ; c'est précisément grâce à l'énergie de leur pouvoir d'attaque, due, comme nous le verrons, à leur sécrétion de diastases très actives, qu'il leur devient possible de se passer d'oxygène libre en utilisant dans une certaine mesure l'oxygène entré en combinaison. Il y a, en effet, entre la vie sans air et la vie à l'air ce rapport tout intime qui montre que ce ne sont là que deux formes d'un même processus fondamental, que les mêmes produits sont directement utilisés par le protoplasma vivant. L'oxygène, toujours nécessaire, peut être pris directement dans le milieu ambiant où il se trouve à l'état libre, ou bien emprunté à une combinaison d'où peut le dégager l'activité protoplasmique spéciale. Il est dans les deux cas utilisé de la même façon générale, comme le prouve la formation du même composé final, l'acide carbonique.

Il existe, du reste, entre les organismes aérobies et les organismes anaérobies, toute une série d'intermédiaires dont l'étude peut jeter une grande lumière sur la physiologie des anaérobies qui apparaît encore si obscure. Bien des Levures peuvent emprunter l'oxygène, soit à l'air en nature ou dissous dans le milieu nutritif, soit à des combinaisons oxygénées plus ou moins stables. Schützenberger a démontré que la *Levure de bière* enlevait très facilement l'oxygène à l'oxyhémoglobine, faisant passer le sang artériel rouge à l'état de sang veineux noir. Ces Levures peuvent emprunter cet oxygène à des composés plus complexes, les sucres ; cette soustraction d'oxygène détermine alors des modifications moléculaires importantes qui constituent la partie fondamentale du processus de la fermentation ; la Levure qui devient ferment vit réellement en anaérobie. On peut imaginer facilement qu'un tel caractère

devienne, chez certaines espèces, tout à fait définitif et prédominant : des types d'anaérobies seront produits.

Du reste, on peut admettre que les éléments d'organismes supérieurs sont de vrais anaérobies. Ils ne peuvent pas utiliser l'oxygène libre, mais seulement l'oxygène en combinaison, combinaison peu stable, il est vrai, l'oxyhémoglobine. Les microbes anaérobies, éléments plus dissociés d'un même tout, n'en diffèrent que parce qu'ils peuvent ou doivent prendre leur oxygène à des composés plus stables ; mais ce n'est là qu'une question de degré, se trouvant sous la dépendance de production de corps oxydants plus énergiques.

Il y a plus ; la question de composition du milieu paraît être des plus importantes. Naegeli, puis Nencki, ont remarqué que diverses Bactéries, agents de fermentation, aérobies habituels, vivent très bien sans oxygène si elles se trouvent dans une solution appropriée, apte à fermenter ; mais que ces mêmes Bactéries ne peuvent plus se développer qu'en présence d'oxygène, si elles ont à leur disposition un liquide nutritif moins favorable. Des recherches récentes semblent indiquer que la présence de certains aliments dans le milieu diminue l'action nocive de l'oxygène sur des anaérobies vrais, à tel point que ces microbes arriveraient en quelque sorte à s'y accoutumer progressivement et à pouvoir vivre réellement en aérobies (1). Entre les organismes aérobies et les anaérobies, il n'y aurait donc pas de différences capitales, essentielles, mais seulement de simples différences de degré, comme le dit Chudiakow (2).

Les microbes anaérobies paraissent être très répandus dans la nature et jouer un grand rôle dans la transformation de la matière organique. Ils peuvent vivre facilement dans le milieu extérieur, grâce à la présence à leurs côtés de nombreuses espèces aérobies qui enlèvent l'oxygène du milieu et le rendent habitable pour les anaérobies (3). Ils causent la putréfaction des matières organiques en donnant un dégagement d'acide carbonique, d'hydrogène et d'hydrocarbures.

Si les cellules végétatives des espèces anaérobies sont aussi sensibles à l'action nuisible de l'oxygène, il n'en est pas de même des organes reproducteurs, des spores. Celles-ci peuvent supporter, en effet, sans être influencées, le contact, même prolongé, de l'air ; peut-être même ce contact est-il nécessaire à leur développement futur, ce qui serait un lien de plus entre les aérobies et les anaérobies. La spore, toutefois, portée dans un milieu nutritif, ne peut germer qu'en l'absence totale d'oxygène.

Entre les espèces dont la moindre trace d'oxygène empêche le développement, et celles qui ont un besoin absolu de ce gaz, s'en trouvent d'autres, assez nombreuses, qui présentent sous ce rapport une indifférence assez complète et font en quelque sorte transition. Les premières étant des *anaérobies vrais* ou *obligés*, ces dernières sont des *anaérobies facultatifs*. Elles se développent au mieux en présence de l'air, mais

(1) Ucke, Ein Beitrag zur Kenntniss der Anaëroben (*Centralbl. für Bakt.*, 1898, XXIII, p. 996). — Trenkmann, Das Wachstum der anaëroben Bakterien (*Ibid.*, p. 1038).

(2) Chudiakow, Études sur l'anaérobiose. Moscou, 1896 (en russe).

(3) Schotts, Ueber das Wachstum anaërober Bakterien bei ungehinderbem Luftzustritt (*Zeitschr. für Hygiene*, 1878, XXVII, p. 132)

végètent quand même, bien que souvent faiblement, dans un milieu complètement dépourvu d'oxygène, sans paraître y provoquer de réactions particulières. Le *Bacille typhique*, le *Micrococcus de la mammite gangreneuse* de Nocard (1) en sont d'excellents exemples.

2. Nutrition.

Toute cellule vivante doit trouver, dans le milieu où elle évolue, de quoi compenser les pertes occasionnées par les actes vitaux, et même de quoi augmenter sa masse, en parties actives ou en réserves. Il lui faut, pour vivre, des *aliments*.

Ces aliments doivent nécessairement renfermer les corps simples qui entrent, sous des groupements divers, dans la constitution du corps de la cellule. Il en est des Bactéries, sous ce rapport, comme de tous les autres êtres vivants, animaux ou plantes. Une partie de la masse cellulaire est formée de composés ternaires ; c'est de la cellulose, de la matière amylacée, des sucres, le tout imprégné d'une forte quantité d'eau. Les éléments chimiques qui dominent sont donc le carbone, l'hydrogène et l'oxygène (2). Le protoplasma, souvent même la membrane, contiennent des matières albuminoïdes ; il lui faut donc absorber de l'azote et accessoirement du soufre et du phosphore. A côté de cela, l'analyse révèle la présence d'un certain nombre d'éléments, considérés comme secondaires, parce que leur action est peu connue, pour ne pas dire complètement ignorée. Ce sont eux qui restent à l'incinération et qu'on désigne sous le nom général de substances minérales. De bons renseignements sont fournis par la composition chimique des Bactéries.

Composition chimique des Bactéries. — L'analyse élémentaire a donné à Cramer (3), pour le *Pneumobacille de Friedländer* et trois microbes voisins, la moyenne suivante :

Carbone	51,07
Hydrogène	6,64
Azote	13,46
Cendres	9,16

Nishimura (4) a obtenu les chiffres suivants :

	Bacille de la tuberculose.	Bacille de la diphtérie.
Carbone	51,62	51,21
Hydrogène	8,07	9,02
Azote	9,09	11,7
Soufre	—	1,45
Phosphore	—	0,67
Cendres	8, 00	—

(1) Nocard, Sur la mammite gangreneuse des brebis laitières (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888, n° 9).

(2) Hesse, Ueber die gasförmigen Stoffwechselproducte beim Bacterien (*Zeitschr. für Hygiene*, 1893, XV, p. 17).

(3) Cramer, Die Zusammensetzung der Bakterien (*Arch. für Hygiene*, 1893, XVI, p. 151).

(4) Toyosaku Nishimura, Untersuchung über die chemische Zusammensetzung eines Wasserbacillus (*Arch. für Hygiene*, 1893, XVIII, 318).

Cramer (1) a du reste démontré que ces chiffres, surtout celui de l'azote, pouvaient varier dans d'assez larges limites pour une même espèce, — et il a surtout expérimenté sur le *Spirille du choléra*, — suivant la valeur nutritive du milieu.

La proportion d'eau est toujours assez élevée; différentes analyses donnent une moyenne de 84 à 85 p. 100, pour 15 à 16 p. 100 de résidu sec.

Nishimura donne, pour le Bacille de l'eau qu'il a étudié, la composition suivante du résidu sec :

Albumine	63,5	p. 100
Hydrocarbonés	12,2	—
Extrait alcoolique	3,2	—
Extrait éthéré	5,1	—
Cendres	11,2	—
Lécithine	0,68	—
Xanthine	0,17	—
Guanine	0,14	—
Adénine	0,08	—

L'auteur signale en outre des traces d'urée, déjà rencontrée par Duclaux dans des ferments des albuminoïdes.

Cramer donne pour le *Pneumobacille de Friedländer*, sur culture à l'infusion de viande, dans des conditions différentes, les chiffres suivants pour 100 de résidu sec :

	Avec 1 p. 100 peptone.	Avec 5 p. 100 peptone.	Avec 1 p. 100 peptone et 5 p. 100 glucose.
Albumine	71,7	79,8	63,6
Extrait alcoolique éthéré	10,3	11,28	22,7
Cendres	13,94	10,36	7,88

Pour le *Spirille du choléra*, le même auteur a remarqué que la quantité de matière albuminoïde variait, pour une même race, de 45 à 65 p. 100 du résidu sec, suivant que la culture était faite en milieu minéral (liquide d'Utchinsky) ou en bouillon de viande, les cendres variant de 11 à 31 p. 100 dans les mêmes conditions. Le chiffre de l'albumine est obtenu en multipliant la quantité d'azote trouvée par 6,25 : il y a certainement là quelque inexactitude, comme le fait remarquer judicieusement Duclaux (2).

D'autres détails sur la composition chimique de la membrane et du protoplasma ont été donnés précédemment (p. 19 et 24); il est inutile d'y revenir.

Aliments.

Les Bactéries doivent donc trouver dans le milieu extérieur principalement le carbone, l'azote et les principes minéraux nécessaires; l'oxygène et l'hydrogène sont unis aux précédents ou se trouvent dans l'eau; accessoirement, elles ont besoin de petites quantités d'autres corps, le soufre et le phosphore surtout.

Les Bactéries, dépourvues de chlorophylle, ne peuvent, comme les plantes vertes, puiser leur carbone directement dans l'atmosphère. De là, nécessité pour elles de le prendre à des composés complexes, formés par des êtres supérieurs. La source en est, d'ordinaire, des substances

(1) Cramer, Die Zusammensetzung der Cholerabacillen (*Arch. für Hygiene*, 1895, XXII, p. 167).

(2) Duclaux, Traité de microbiologie, I, p. 168.

ternaires, les sucres, l'amidon, la cellulose, la glycérine, l'acide tartrique, l'acide acétique, l'alcool éthylique, etc. Pour rentrer dans la nutrition, pour être assimilés, ces corps doivent subir des modifications importantes, sous l'influence de produits spéciaux, de nature diastasique, que nous étudierons plus loin.

D'après Winogradsky (1), les Bactéries de la nitrification, capables de vivre et de pulluler dans un milieu exclusivement minéral, dépourvues de tout pigment assimilateur de carbone, emprunteraient leur carbone aux carbonates.

La principale source d'azote est le groupe des matières albuminoïdes. Les meilleurs de ces éléments azotés sont ceux qui sont très solubles et facilement diffusibles. Les peptones sont dans ce cas. Beaucoup d'espèces ont la propriété de transformer en peptones les albumines qu'on leur offre. Le fait, nécessaire à la digestion, est dû à la sécrétion de ferments particuliers, dont la production est en rapport tellement direct avec la fonction nutritive qu'ils ne sont formés par la cellule que lorsqu'ils sont nécessaires. Telle espèce qui produira une quantité de ferment actif si on lui donne à consommer de l'albumine, n'en produira pas trace, nourrie avec des peptones. Au second rang des substances azotées, assimilables pour les Bactéries, viennent les sels ammoniacaux et tout d'abord ceux à acide organique, lactate et tartrate d'ammoniaque surtout. L'urée est une bonne source d'azote; certaines espèces semblent même en faire leur aliment de prédilection; l'asparagine, la leucine, la tyrosine en fournissent aussi. Les nitrates (2), principalement ceux de potasse et de soude, peuvent aussi servir à la nutrition azotée, mais il faut qu'ils soient accompagnés d'une matière organique. Il peut en être de même pour l'urée; d'après Richet (3), le *Micrococcus ureæ* ne produit bien sa fermentation de l'urée que lorsqu'il trouve des matières albuminoïdes dans la solution. C'est peut-être pourquoi il n'y a fermentation ammoniacale dans la vessie que lorsqu'il y a inflammation de cet organe et production de mucine ou d'albumine.

Les Bactéries ne paraissent pas pouvoir utiliser l'azote du cyanogène ou de ses composés.

L'assimilation de l'azote gazeux de l'atmosphère par certaines Bactéries, et surtout des espèces du sol, est un fait acquis aujourd'hui; il a une importance considérable au point de vue de la statique de la matière azotée sur le globe. Les recherches de Berthelot (4) et de Winogradsky (5) démontrent qu'il existe plusieurs espèces bactériennes jouissant à divers degrés de cette intéressante propriété, indépendamment d'autres organismes inférieurs, bien différents, Algues inférieures, orga-

(1) Winogradsky, Morphologie des organismes de la nitrification (*Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, 1892).

(2) Gayon et Dupetit, Sur la fermentation des nitrates (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1882, XCV). — *Id.*, Sur la transformation des nitrates en nitrites (*Ibid.*, 1882, XCV, p. 1365). — Déhérain et Maquenne, De la réduction des nitrates dans les terres arables (*Ibid.*, 1882, XCV, p. 691, 732, 854). — Winogradsky, Recherches sur les organismes de la nitrification (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, nos 4 et 5).

(3) Richet, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1881, XCII, p. 730.

(4) Berthelot, Fixation de l'azote par les Microbes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1892, CXV, p. 569, et 1893, CXVI, p. 842).

(5) Winogradsky, Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les Microbes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1893, CXVI, p. 1385; 1894, CXVIII, p. 253. — Et : *Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, 1895, III, p. 297).

nismes des nodosités des racines des Légumineuses. Ces derniers, qu'on avait d'abord rapprochés des Bactéries, ont été très étudiés par Hellriegel, Wilfarth, Vuillemin, Beyerinck, Schlœsing fils, Laurent (1); ils se rapprochent bien plutôt des Champignons vrais que des Bactéries. La plus intéressante, à ce point de vue, des espèces bactériennes connues, est celle qu'a isolée Winogradsky, la seule, du reste, qui lui ait montré bien nettement le phénomène de fixation d'azote; il en fait un *Clostridium*, à cause de la propriété que présentent ses éléments en bâtonnet de se renfler en fuseau au moment de la formation des spores, et la dénomme *Clostridium Pasteurianum*. C'est une Bactérie anaérobie vraie, qui ne peut végéter dans le sol qu'à la condition d'être associée à des aérobies qui détournent d'elle l'oxygène. Il est parvenu à l'isoler en faisant des cultures successives dans des milieux totalement dépourvus d'azote combiné, en présence d'une atmosphère d'azote. C'est un ferment butyrique énergique. La fixation par cette espèce d'une petite quantité d'azote demande la consommation d'une très forte quantité de matière hydro-carbonée, de glucose par exemple.

Les Bactéries ont en outre besoin d'éléments minéraux, que l'on retrouve en quantités très notables dans leurs cendres. Les principaux sont le soufre, le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium, le chlore, le fer, le silicium.

L'importance des albuminoïdes et des matières ternaires, qui entrent dans le courant vital d'une façon déterminée, après avoir subi des modifications connues, est tout à fait hors de doute. Il n'en est pas de même du rôle des substances minérales. Les belles recherches de Raulin (2) sur le développement de l'*Aspergillus niger*, une des Moisissures les plus communes, ont jeté une vive lumière sur cette question. Ce Champignon se développe abondamment sur les tranches de citron, sur le pain mouillé d'un peu de vinaigre et en général sur tous les milieux à réaction acide, comme les autres Moisissures du reste. Raulin est arrivé à constituer un milieu purement minéral où les conditions de temps, de lumière, de température, d'aération, étant égales, la récolte de la plante est supérieure en poids à celle que fournit un quelconque des milieux habituels. Ce liquide nutritif, connu sous le nom de *liquide Raulin*, a la composition suivante :

Eau	1500 grammes.
Sucre candi	70 —
Acide tartrique	4 —
Nitrate d'ammoniaque	4 —
Phosphate d'ammoniaque	0gr,60
Carbonate de potasse	0gr,60
Carbonate de magnésie	0gr,40
Sulfate d'ammoniaque	0gr,25
Sulfate de zinc	0gr,07
Sulfate de fer	0gr,07
Silicate de potasse	0gr,07

(1) Schlœsing et Laurent, Recherches sur la fixation de l'azote libre par les plantes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1892, VI, p. 67). — Consulter aussi : Kossowitch, *Bot. Zeit.*, 1894, fasc. V. — Duclaux, Sur la fixation de l'azote atmosphérique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1894, VIII, p. 728).

(2) Raulin, Études chimiques sur la végétation. Recherches sur le développement d'une Mucédinée dans un milieu artificiel (*Ann. des sc. nat.*, *Bot.*, 1870).

Si on vient à diminuer ou à supprimer l'un des sels de cette liste, même ceux qui n'entrent que pour une proportion très faible dans la solution, la récolte diminue dans des limites parfois très larges. La suppression du sel de zinc, qui n'entre que pour 7 centigrammes dans le liquide, donne une récolte qui ne représente, en poids, que le *dixième* de celle du liquide normal. Le résultat a été identique dans une nombreuse série de cultures. Dans un liquide sans potasse, la récolte tombe au 1/25e de la normale; sans ammoniaque, au 1/150e; sans acide phosphorique, au 1/200e. L'influence de ces éléments minéraux est indiscutable; le rôle qu'ils remplissent dans les réactions vitales est inconnu.

Les Bactéries se contentent aussi très bien de solutions purement minérales. Elles y prospèrent moins bien, cependant, que dans les liquides tenant en dissolution des matières albuminoïdes. Pasteur a créé, le premier, un tel milieu artificiel. Depuis, d'autres formules ont été imaginées, répondant mieux à certaines exigences. La composition de plusieurs de ces solutions sera donnée plus loin.

Dans un mélange de substances alimentaires, une espèce ne s'adresse pas, sans choix, à la première venue, mais toujours à la forme la plus assimilable, à celle qui demande le moins de travail pour entrer dans la nutrition. Ce n'est que quand cette première substance est consommée, qu'elle s'attaque à une seconde de digestion moins facile. Lorsqu'on donne, par exemple, au *Bacillus butyricus* à la fois du sucre et de la matière cellulosique, il consomme tout d'abord la provision sucrée et après, seulement, se nourrit de l'autre composé ternaire, qu'il doit modifier d'une façon beaucoup plus profonde pour pouvoir l'utiliser.

Le choix de l'aliment influe considérablement sur le développement de bien des espèces. Certaines peuvent croître tout en n'ayant à leur portée que des proportions tellement minimes qu'elles échappent parfois à l'analyse. L'eau, même pauvre en matières organiques, est un milieu où beaucoup de Bactéries peuvent se multiplier abondamment. Le *Micrococcus aquatilis* et le *Bacillus erythrosporus*, d'après Meade Bolton (1), se développent très bien dans l'eau distillée. Dans ces conditions, le développement s'arrête au bout d'un certain temps, lorsque les aliments sont consommés jusqu'à la dernière trace; les individus tombent en état de vie latente, ou meurent après avoir donné des spores. En général, plus un milieu est nutritif pour une espèce, plus elle y prospère, toutes les autres conditions étant égales. Il est très probable que par addition de certaines substances en proportions minimes, on doit activer la multiplication, comme nous avons vu le zinc du *liquide Raulin* le faire pour l'*Aspergillus niger*; les recherches sur ce point sont à peine ébauchées.

La forme peut aussi varier dans certains cas suivant l'alimentation. Quand celle-ci est abondante, chez beaucoup d'espèces en bâtonnets, les articles tendent à rester unis en longues chaînes, ou se fusionnent en longs filaments. Nous avons vu que les *formes d'involution*, qu'on tient pour des productions pathologiques, se produisent surtout quand les milieux nutritifs s'appauvrissent ou qu'il s'y rencontre des produits nuisibles.

(1) Meade Bolton, Ueber das Verhalten verschiedener Bacterienarten im Trinkwasser (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 1886, p. 76).

La réaction du milieu a, ici, une grande importance. En général, les Bactéries ne se développent bien que dans des milieux neutres ou légèrement alcalins. Peu d'espèces aiment les milieux acides, le *Bacillus aceti*, de la Mère de vinaigre, en est un rare exemple. Plusieurs des espèces qui provoquent la fermentation ammoniacale de l'urée peuvent vivre dans un milieu rendu fortement alcalin. Mais, en général, dès que la quantité d'acide ou d'alcali formé aux dépens du milieu par le microbe atteint un certain taux, la végétation s'arrête, sous l'influence nuisible de la réaction produite.

3. Produits de la vie cellulaire.

La vie microbienne s'accompagne toujours de la formation de produits divers provenant de l'activité propre du protoplasma. Le rôle, la nature, la composition de ces produits sont des plus variables.

Les uns, qu'on peut regarder comme de véritables *sécrétions*, en se basant sur ce que l'on observe chez des êtres plus élevés, servent à l'utilisation directe des substances qui doivent entrer dans la nutrition. Les autres, semblant de véritables *excrétions*, sont plutôt des déchets de la vie cellulaire, destinés à être rejetés loin de la cellule à laquelle leur accumulation pourrait nuire. Il est encore difficile d'établir entre ces deux groupes des démarcations nettes, à cause de l'incertitude où l'on est du rôle véritable de certains de ces produits ; c'est pourquoi, bien qu'étant de destinée toute différente, leur étude ne peut guère être séparée jusqu'ici.

Diastases. — Les produits du premier groupe jouent un rôle considérable dans les phénomènes de nutrition des microbes. C'est en effet par leur intermédiaire que se produisent les modifications nécessitées d'ordinaire pour l'accomplissement de cet acte physiologique. Vignal (1) et Fermi (2) en ont depuis longtemps signalé la présence et les effets chez plusieurs espèces.

Les aliments peuvent se trouver dans le milieu sous une forme directement assimilable. C'est le cas le plus rare. Presque toujours il leur faut, pour pouvoir être absorbés, subir des modifications spéciales, qui portent simplement sur leur groupement moléculaire, ou des transformations plus profondes. Les uns sont solides et insolubles, l'amidon, la cellulose, l'albumine, la fibrine. D'autres, bien qu'en dissolution, ne peuvent servir à la nutrition qu'après un changement d'état ; c'est ainsi que le sucre de canne a besoin d'être interverti, que les nitrates ont besoin d'être réduits. Ces transformations s'opèrent sous l'influence de sécrétions spéciales, de ferments solubles, auxquels on peut donner le nom général de *diastases* (3). Les conditions de nutrition des Bactéries sont, de ce côté, identiques à celles des êtres supérieurs.

L'action des diastases peut se résumer dans cette phrase magistrale de Duclaux : « Les diastases sont des moyens de dislocation et de destruction plus ou moins complète, et peut-être de construction des édifices moléculaires complexes élevés par la vie. »

(1) Vignal, Contribution à l'étude des Bactériacées, 1889.

(2) Fermi, I formenti peptici e diastatici dei microbi (*Giornale della Accad. di med. di Torino*, 1890, p. 95. — Et : *Arch. für Hygiene*, I, 1890).

(3) Duclaux, Chimie biologique, p. 120 et suiv. ; Traité de microbiologie, t. II, 1899.

Les substances à transformer se trouvant en très grand nombre, les diastases destinées à agir sur elles sont également très nombreuses. On peut les classer en plusieurs groupes en prenant comme base la nature même de la modification produite.

Beaucoup de ces diastases ont pour effet de dissocier une molécule complexe en plusieurs composés plus simples en y faisant pénétrer un certain nombre de molécules d'eau. On peut les nommer avec Duclaux *diastases d'hydratation*. D'autres, à l'inverse, provoquent la décomposition moléculaire avec élimination d'eau; ce sont les *diastases de déshydratation*. Certaines agissent sur l'aliment par oxydation, *diastases d'oxydation*; d'autres par désoxydation, *diastases de réduction*.

Toujours se retrouve ce caractère primordial des diastases : la quantité de matière transformée est considérable par rapport à celle de substance diastasique, et, de plus, la modification accomplie, la diastase se retrouve là, prête à exercer à nouveau son action, si les circonstances s'y prêtent.

Quelques exemples mettront mieux en relief le rôle et l'importance des diastases microbiennes.

L'amidon a besoin, pour être assimilé, d'être transformé en maltose et en glucose, d'être saccharifié. La plante qui redissout l'amidon emmagasiné dans ses réserves, l'embryon qui germe dans la graine, développent, à ce moment du besoin seulement, un ferment soluble, l'*amylase*, qui opère la modification; l'animal, qui digère l'amidon, le fait avec son pancréas, qui sécrète de l'amylase. Beaucoup de Bactéries sécrètent une amylase identique. Hüppe (1) en a signalé la présence chez le *Bacillus lacticus*. Miller (2) a constaté qu'une Bactérie commune dans l'intestin de l'homme dissolvait promptement l'amidon. Wortman (3) a pu isoler, d'une culture de Bactéries de putréfaction de matières amylacées, un ferment soluble saccharifiant très promptement l'amidon. Vignal (4) a reconnu cette propriété à plusieurs des espèces qui vivent en commensales dans la bouche de l'homme et auxquelles on doit très probablement rapporter l'action saccharifiante de la salive, en majeure partie sinon en totalité. Le *Bacille amylozyme* de Perdrix (5) transforme directement la fécule de pomme de terre en sucre qu'il fait alors fermenter en donnant de l'alcool éthylique et de l'alcool amylique.

L'amylase est très répandue chez les Bactéries, mais très inégalement distribuée. Fermi (6) la donne comme abondante chez les *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *B. ramosus*, *B. Fitzianus*, chez le *Bacille du charbon*, le *Bacille de la tuberculose*, le *Spirille de Finckler et Prior*; elle est peu abondante chez le *Bacille typhique*, le *Bacille de la diphtérie*, le

(1) Hüppe, Untersuchungen über die Zersetzung der Milch durch Microorganismen (*Mith. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, p. 309, 1884).

(2) Miller, Ueber Gährungsvorgänge in Verdauungstractus und die dabei betheiligten Spaltpilze (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1884, nº 40, p. 843).

(3) Wortmann, *Zeitschr. für physiol. Chemie*, Bd VI.

(4) Vignal, Recherches sur l'action des Microorganismes de la bouche sur quelques substances alimentaires (*Arch. de phys.*, 1887, X, p. 286).

(5) Perdrix, Sur les fermentations produites par un Microbe anaérobie de l'eau (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V, 1891, p. 287).

(6) Fermi, Contributo allo studio dei fermenti diastatici ed inversivi segregati dei microorganismi (*Annali d'igiene sperimentale*, II, 1892, p. 117).

Bacille de la septicémie du lapin ; il n'y en a pas traces chez le *Bacille pyocyanique*, le *Micrococcus prodigiosus*.

Le sucre de canne et le sucre de lait ne peuvent servir directement aux échanges nutritifs des animaux et des plantes. L'animal les intervertit à l'aide de l'*inversine*, sécrétée dans son intestin. Les plantes qui ont du sucre cristallisable dans leurs réserves, la betterave, la canne à sucre, sécrètent, au moment où elles doivent l'utiliser, une diastase spéciale, la *sucrase*, qui le transforme en sucre interverti, mélange de glucose et de lévulose. C'est ce que fait la Levure de bière, lorsqu'on lui donne du sucre de canne comme aliment. C'est ce que doivent faire les nombreuses espèces de Bactéries, pouvant vivre de sucre cristallisable. La présence de la sucrase a été signalée déjà chez le *Bacillus butyricus* et chez le *Bacillus lacticus* par Hüppe (1); Vignal (2) signale plusieurs Bactéries de la bouche, entre autres le *Bacillus subtilis*, qui intervertissent rapidement le sucre de canne.

Les microbes producteurs d'inversine sont nombreux; Fermi (3) et Monterano en signalent soixante-dix dont les principaux, au point de vue de l'énergie de la sécrétion, sont le *Proteus vulgaris*, le *Bacillus fluorescens liquefaciens*, le *Bacille rouge de Kiel*.

Le *Bacillus butyricus* (4) et le *Spirillum rugula* (5) sécrètent une diastase, qui n'a pas encore été isolée, une *cellulase*, qui dissout la cellulose et en permet l'absorption après l'avoir, au préalable, transformée en glucose. Ce ferment soluble n'agit pas sur toutes les variétés de cellulose ; c'est surtout les membranes végétales jeunes qu'il attaque. Celles qui se sont durcies par l'âge ou l'incrustation lui résistent ; il en est de même de la cellulose des plantes aquatiques. Il est très probable que ce sont de telles Bactéries qui jouent un rôle prédominant dans la digestion de la cellulose, celle qui se fait dans la panse des Ruminants, par exemple.

Les matières albuminoïdes, pour être absorbables, doivent subir une transformation plus complexe et moins connue. Elles deviennent solubles et se changent, en s'hydratant, en des produits dialysables, non coagulables par la chaleur, auxquels on donne le nom général de *peptones*. Un grand nombre de Bactéries possèdent la propriété de transformer les albumines en peptones. Elle existe, en particulier, très marquée chez les espèces occasionnant les putréfactions. La putréfaction, dans ce cas, débute toujours par une peptonisation ; avant la production des phénomènes putrides proprement dits, caractérisés surtout par l'apparition de gaz fétides, le milieu est très riche en peptones, que l'on peut facilement retirer par l'ébullition et l'évaporation après filtration. Cette peptonisation s'accomplit, bien certainement, dans tous les cas, sous l'influence de diastases sécrétées par les Bactéries. Il est facile de constater la présence de peptones dans un liquide de

(1) Huppe, *loc. cit.*
(2) Vignal, *loc. cit.*
(3) Fermi et Monterano, Sull' inversione del saccharosio da parte dei microbi (*Annali d'igiene sperimentale*, IV, 1894, p. 383).
(4) Van Tieghem, Sur la fermentation de la cellulose (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXVIII, 1879, p. 205).
(5) Prazmowsky, Zur Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterienarten (*Bot. Zeit.*, 1879, nº 26).

culture au moyen de la réaction du biuret. En alcalinisant avec de la lessive de soude et ajoutant une solution très étendue de sulfate de cuivre, il se produit, lorsqu'il y a des peptones, une coloration rose ou violette.

La *liquéfaction de la gélatine*, phénomène d'une importance si grande dans la pratique des cultures, a été considérée, depuis quelque temps, comme causée par un ferment sécrété par l'espèce liquéfiante. Cette liquéfaction est en effet une véritable peptonisation, causée, d'après Fermi (1), par la pepsine ou une diastase très voisine. Toutes les recherches tendent à confirmer cette opinion. Bitter (2), sans isoler de diastase, avait montré qu'une culture de Choléra, stérilisée à 60°, liquéfiait encore de la gélatine ; l'expérience a été vérifiée par Sternberg (3) pour plusieurs autres espèces, dont *Micrococcus prodigiosus*, *M. indicus*, *Bacillus pyocyaneus*, *Spirillum Finckleri*. Rietsch (4) a enfin réussi à isoler le ferment dont il a reconnu la présence chez toutes les espèces, liquéfiant la gélatine, qu'il a examinées ; il manquait au contraire chez les espèces ne liquéfiant pas, les *Bacillus typhicus* et *B. tuberculosis* par exemple.

Fermi retrouve cette même diastase chez beaucoup d'espèces liquéfiantes. La nature du milieu paraît avoir une grande influence sur la sécrétion du ferment et la production de la liquéfaction de la gélatine. L'addition de sucres diminue ou supprime cette liquéfaction (5) ; il en est de même de la présence de petites quantités de la plupart des antiseptiques.

Il est probable qu'il existe, dans ce groupe des *diastases protéolytiques*, plusieurs types de ferments sécrétés par les nombreux microbes qui s'attaquent aux matières albuminoïdes. On ne connaît pas sûrement d'espèce microbienne produisant de la *pepsine*, capable de digérer la fibrine en milieu acide. Les nombreuses espèces en question sécrètent de la *trypsine*, qui agit en milieu neutre ou alcalin. C'est la raison pour laquelle la décomposition de la matière albuminoïde dépasse toujours le terme de peptone, mais donne des acides amidés, surtout de la leucine et de la tyrosine.

Dans ses études si complètes sur le lait, Duclaux (6) a obtenu de certaines Bactéries, agents de la fermentation de la caséine, les *Tyrothrix*, comme il les nomme, une diastase spéciale, la *caséase* très voisine ou peut-être même identique à la trypsine. Cette *caséase*, mise en contact avec la caséine du lait, qui doit alors être coagulée par avance, la dissout ; il se forme un liquide opalescent des plus propres à l'assimilation.

La *caséase* n'agit que sur la caséine coagulée. Ce phénomène de précipitation se produit sous l'influence d'un autre ferment soluble, la *présure*. Elle se trouve sécrétée, côte à côte avec la *caséase*, par les Bactéries de fermentation de la caséine. Quelques espèces ne produisent

(1) Fermi et Pernossi, Ueber die Enzyme (*Centralbl. für Bakt.*, XV, 1894, p. 229).
(2) Bitter, Ueber Fermentausscheidung von Koch'ser Kommabacillus (*Arch. für Hygiene*, V, 1886).
(3) Sternberg, The liquefaction of gelatine by Bacteria (*Medical News*, 1887, n° 14).
(4) Rietsch, Ferments des Bactéries (*Journ. de pharm. et de chim.*, 1er juillet 1887).
(5) Auerbach, Ueber die Ursache des Hemmung der Gelatineverflüssigung durch Bakterien durch Zuckerzusatz (*Arch. für Hygiene*, XXXI, 1897, p. 311).
(6) Duclaux, Le lait, Paris, 1887, J.-B. Baillière, et Chimie biologique, Paris, 1883.

que la présure, le *Bacillus lacticus* par exemple ; la coagulation du lait se fait alors sous son influence, mais le coagulum reste intact, si d'autres espèces n'interviennent pas.

La transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque, causée par le *Micrococcus ureæ*, s'opère par l'intermédiaire d'une diastase isolée par Musculus (1), et dont la production par la Bactérie a été mise hors de doute par les recherches de Pasteur et Joubert (2). Miquel (3) a fait une étude soignée de cette *uréase* ; il a montré qu'elle était sécrétée par un grand nombre d'espèces bactériennes qu'il réunit sous le nom de *ferments de l'urée*.

Des diastases d'oxydation, des *oxydases*, se rencontrent assurément chez bien des espèces microbiennes. On doit certainement leur attribuer bien des changements de coloration des milieux de culture. Les brunissements ou noircissements des pommes de terre, des tubercules de dahlia, par exemple, paraissent dus à des oxydations de la tyrosine du milieu sous l'influence de ferments diastasiques oxydants (*tyrosinase* de Bourquelot) (4); il en est de même du verdissement de l'artichaut.

Certains microbes produisent aussi des diastases réductrices, telles que celle nommée *philothion* par Rey-Pailhade (5), qui provoque la formation d'hydrogène à l'état naissant, réduit à froid le carmin d'indigo et donne de l'hydrogène sulfuré avec la fleur de soufre.

Toxines.

Tout au voisinage des diastases vraies dont il vient d'être question, doivent se placer des substances de composition voisine, produites comme elles par le protoplasma actif de certaines espèces microbiennes, qui jouent un rôle très important dans l'action physiologique propre à ces espèces.

Par leur constitution et leurs propriétés générales, ces substances sont des matières albuminoïdes vraies. On les a dénommées, un peu au hasard, *albumines toxiques*, *toxalbumines*, *albumoses toxiques*, ou plus simplement *toxines*, à cause de leur action éminemment toxique. C'est cette dernière dénomination qui paraît prévaloir ; mais nous verrons qu'elle est appliquée couramment aux solutions de ces vrais albuminoïdes toxiques dans les milieux propices au développement du microbe qui les produit : il est nécessaire de bien faire cette distinction.

Elles possèdent beaucoup des propriétés des diastases, en particulier, sont insolubles dans l'alcool, adhèrent facilement aux précipités qui se produisent dans les liquides où elles se trouvent en dissolution, se comportent en général comme elles sous l'influence de la chaleur et de la lumière, se détruisant à 70°, et exposées à la lumière en présence de l'air. Introduites dans l'organisme animal, elles visent de préférence ou uni-

(1) Musculus, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1876.

(2) Pasteur et Joubert, Sur la fermentation de l'urine (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXIII, 1876).

(3) Miquel, Études sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée (*Ann. de micr.*, 1889-1899).

(4) Bourquelot, Sur la recherche de la tyrosine dans divers produits d'origine animale (*Soc. de Biol.*, 8 mai 1897).

(5) Rey-Pailhade, Recherches expérimentales sur le philothion. Paris, 1891. — Le philothion et le soufre (*Assoc. franç. pour l'av. des sc.*, *Congrès de Besançon*, 1893).

quement certains éléments où elles se fixent et dont elles modifient le fonctionnement dans un sens déterminé. Comme les diastases encore, elles peuvent exercer des actions considérables à des doses infinitésimales. Toutefois, comme le fait remarquer si judicieusement Duclaux (1), elles ont cette particularité que, au lieu d'agir sur une substance inerte, l'aliment à modifier, comme les diastases véritables, elles agissent sur une substance contenue dans des cellules vivantes, modifiant plus ou moins, dans un sens ou dans un autre, les propriétés biologiques de ces éléments.

Il est fort probable qu'on doit les rapporter aux sécrétions vraies et les éloigner des produits d'excrétion. Elles servent en effet directement à la vie microbienne, en favorisant l'action et la pullulation du microbe aux dépens des organismes qu'il attaque et envahit ; elles font corps avec son action physiologique et sont par là plus ou moins nécessaires à sa vie. Il sera parlé plus loin, en étudiant l'action des Bactéries pathogènes, des particularités de leurs actions physiologiques si importantes ; il ne peut être question ici que de leurs rapports avec les microbes, éléments producteurs.

C'est Roux et Yersin (2), dans leurs belles recherches sur la diphtérie, qui ont les premiers signalé, dans les cultures du Bacille spécifique de cette affection, un corps « ayant beaucoup d'analogies avec les diastases », précipitable comme elles par l'alcool, pouvant être entraîné comme elles par certains précipités gélatineux, comme celui de phosphate de chaux, produits dans le liquide qui les contient.

Christmas (3), peu après, a isolé de cultures d'une Bactérie de la suppuration, le *Micrococcus pyogenes aureus*, une substance similaire, ayant des propriétés pyogènes manifestes.

Après eux, Hankin (4) découvrait dans des cultures pures de *Bacille du charbon* une matière albuminoïde spéciale, une *albumose*, possédant une puissance toxique extrêmement énergique. Ce principe existe surtout abondamment dans les vieilles cultures dans le bouillon. Il l'isole en précipitant par l'alcool et dialysant ; le résidu est dissous dans l'eau distillée et filtré sur une bougie Chamberland. Cette substance injectée dans les veines du lapin, à la faible dose d'un dix-millionième du poids du corps, rendrait les animaux réfractaires aux inoculations les plus virulentes.

Les recherches les plus complètes jusqu'ici sur ces matières albuminoïdes toxiques ont été faites par Brieger et Fraenkel (5). Ils ont d'abord étudié celle découverte par Roux et Yersin dans les cultures de *Bacille de la diphtérie*. Ils l'obtiennent en précipitant les bouillons de cultures filtrés sur une bougie Chamberland, par le sulfate d'ammoniaque, à une température de 30 degrés. Le sel que peut contenir le précipité est éliminé par la dialyse, jusqu'à disparition de précipité par le chlorure de baryum. On dessèche le résidu dans le vide, à 40 degrés.

(1) Duclaux, *Traité de microbiologie*, II, p. 48.

(2) Roux et Yersin, Mémoires sur la diphtérie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888 et 1889).

(3) Christmas, Recherches expérimentales sur la suppuration (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888, p. 470).

(4) Hankin, Immunity produced by Albumose isolated from Anthrax cultures (*Brit. med. Journ.*, 1889, p. 810).

(5) Brieger et Fraenkel, Untersuchungen über Bacteriengifte (*Berl. klin. Wochenschr.*, 1890, n°s 11 et 12). — Brieger, Weitere Erfahrungen über Bakteriengifte (*Zeitschr. für Hygiene*, XIX, 1895, p. 101).

On obtient alors une substance amorphe, floconneuse, très légère, d'un blanc éclatant, qui possède beaucoup des réactions des albumines solubles. Elle est extrêmement soluble dans l'eau, ne précipite pas par l'ébullition, par l'acétate de plomb, par l'acide nitrique étendu même à chaud; précipite au contraire par l'acide carbonique en solution chargée, par les acides minéraux concentrés, l'acide acétique, l'acide phénique, le sulfate de cuivre, le nitrate d'argent, le bichlorure de mercure. Elle ne donne aucun résultat positif avec les réactifs des alcaloïdes; par contre, elle donne d'une façon très nette la réaction du biuret, celle de la xanthoprotéine et la coloration rouge avec le réactif de Millon, caractéristique des matières albuminoïdes typiques, ce qui permet d'affirmer que c'est un dérivé de l'albumine. Les auteurs ont même pu déterminer sa composition centésimale, qui se rapproche beaucoup de celle de la sérine.

Toutefois, cette substance présente une toxicité bien moindre que celle que Roux et Yersin avaient isolée dans les mêmes conditions. Tandis que ces derniers tuaient un cobaye par l'inoculation sous la peau de deux dixièmes de milligramme de leur produit toxique, les auteurs allemands doivent, pour arriver au même résultat, inoculer 10 milligrammes du leur. Ce qui semble démontrer qu'ils n'obtiennent par leur procédé qu'un mélange complexe, ne contenant qu'une assez faible proportion de matière réellement toxique.

Ces toxines ou toxalbumines formeraient deux groupes se distinguant par leur solubilité ou leur insolubilité dans l'eau. Parmi les premières se trouveraient celles que l'on a découvertes dans les cultures de diphtérie, du tétanos et du charbon; parmi les secondes, celles qui proviennent des microbes de la fièvre typhoïde, du choléra, du Microcoque pyogène doré.

L'effet toxique qu'elles produisent est toujours moindre que celui que détermine la Bactérie vivante. Certaines ont une action qui rappelle beaucoup celle du venin des serpents, dont les principes actifs se rangent dans la même catégorie; celle de la diphtérie rappelle par ses réactions le principe toxique qui a été isolé du sang des Murénides par Mosso.

Telles qu'on les connaît actuellement, ces toxines sont des corps amorphes, d'un blanc jaunâtre, sans odeur, solubles dans l'eau, l'alcool faible, insolubles dans l'alcool fort et la plupart des autres dissolvants ordinaires. Mises en solution dans l'eau, elles sont facilement entraînées par les précipités gélatineux, comme les diastases. La chaleur a d'ordinaire sur elles une action altérante et destructive, une température de 65° est souvent la plus haute qu'elles puissent supporter sans s'altérer; certaines cependant peuvent être soumises à une température de 100°, même de 120°, sans modification de leur activité. Elles se comportent comme les matières albuminoïdes envers les réactifs.

Les Bactéries ne sont pas du reste les seuls êtres qui puissent produire de telles substances; Ehrlich (1) a montré que l'*abrine* du jéquiry et la *ricine* des graines de ricin avaient de très étroites relations avec les toxalbumines du tétanos et de la diphtérie, ce qui tiendrait à faire penser que la fonction d'élaborer des toxalbumines est une propriété biologique des éléments vivants.

(1) Ehrlich, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1891.

A côté de ces produits de sécrétion qui servent directement à la nutrition et à la vie du microbe, il en existe d'autres qui semblent ne plus pouvoir servir aux fonctions vitales une fois sortis de l'élément producteur, mais au contraire, véritables substances de déchet, entraver ou empêcher le développement, s'ils s'amassent en quantité un peu grande dans le milieu. Qu'ils nuisent au développement en exerçant une action toxique sur les cellules vivantes ou en gênant l'élimination des substances que chaque élément produit continuellement, ils doivent être mis en état de ne pas nuire, sans quoi les fonctions des éléments cessent de s'accomplir, la mort s'ensuit bientôt. Ils sont donc, par leur nature et leurs effets, en tout comparables aux produits d'excrétion des êtres supérieurs. C'est ainsi, par exemple, que les fermentations lactique ou butyrique s'arrêtent bientôt, si l'on ne prend pas soin de neutraliser l'acide avec de la chaux.

Ptomaïnes.

C'est parmi ces produits de déchet qu'on doit ranger les *ptomaïnes*. Ce sont des composés tout autres que les précédents ; véritables bases azotées, elles sont voisines des alcaloïdes végétaux, dont elles se rapprochent beaucoup par leurs réactions chimiques et leur action physiologique. Elles ont été signalées dans les décompositions de matières animales et désignées sous le nom de *ptomaïnes* (πτῶμα, cadavre). Selmi (1) les a obtenues le premier des cadavres humains. Gautier (2) en a donné en même temps une étude chimique bien plus complète et a précisé leurs rapports avec la putréfaction et, conséquemment, le développement des Bactéries. On en a obtenu depuis un grand nombre dont l'étude se trouve surtout dans les récents mémoires de Brieger (3) et de Gautier.

Les unes sont sans action sur l'organisme animal ou n'ont que des effets physiologiques peu marqués et passagers. D'autres déterminent des troubles plus ou moins prononcés, souvent considérables, amenant rapidement la mort, à doses très faibles ; elles sont en tout comparables aux poisons végétaux les plus énergiques, surtout la morphine, l'atropine, la muscarine des Champignons vénéneux. Les troubles occasionnés par des ptomaïnes, produites par des Bactéries pathogènes, peuvent ressembler à ceux des maladies infectieuses où elles se rencontrent. Récemment, Bouchard (4) a retiré des urines, dans des cas de maladies infectieuses, des quantités notables de ptomaïnes qui proviennent, pour lui, du développement dans l'organisme des Bactéries pathogènes, cause de l'affection. Griffiths (5) a étendu ces recherches à toute une série d'affections et a pu, dans certains cas, obtenir des ptomaïnes,

(1) Selmi, *Actes de l'Acad. de Bologne*, 1872 et suiv.

(2) Armand Gautier, Traité de chimie appliquée à la physiologie. Paris, 1884. — Gautier et Étard, *C. R. de l'Acad. des sc.*, XCIV, p. 1600, et XCVII, p. 266. — Gautier, Les toxines microbiennes et animales, 1896.

(3) Brieger, Microbes, ptomaïnes et maladies, traduction par Roussy et Winter. Paris, 1887.

(4) Bouchard, Sur la présence d'alcaloïdes dans les urines au cours de certaines maladies infectieuses (*Soc. de Biol.*, août 1882).

(5) Griffiths, *C. R. des séances de l'Acad. des sc.*, CXV, p. 185, 418 et 667 ; CXVI, p. 1206 ; CXIII, p. 656 ; CXIV, p. 496 et 1383 ; CXVII, p. 744 ; CXX, p. 1228.

à l'aide desquelles on pouvait reproduire chez l'animal une partie des symptômes de l'affection première.

Il serait d'un très haut intérêt de pouvoir rapporter à des espèces de Bactéries bien définies une ptomaïne donnée. On a eu effectivement affaire, dans ces expériences, à des espèces diverses qui, se développant côte à côte, mélangeaient leurs produits d'excrétion. En opérant sur des cultures pures, il doit être possible d'arriver à une précision plus grande. Brieger l'a fait récemment pour quelques espèces. Un très intéressant essai a été fait par Tito Carbone (1) avec des cultures de *Proteus vulgaris*, Bactérie très commune dans les putréfactions animales. De grandes quantités de viande stérilisée, finement hachée, étaient ensemencées à l'aide de cultures pures de l'espèce en question; lorsque le développement se faisait au mieux, que la putréfaction était avancée, l'auteur procédait à l'analyse. Il a ainsi reconnu la présence, dans ces cultures où ne végétait que la seule espèce en question, de différentes bases trouvées dans les putréfactions de chair de poisson, en particulier la choline, l'éthylène diamine, la gadinine et la triméthylamine. Leur nature, du reste, varie probablement suivant la composition du milieu que le microbe décompose.

Gaertner (2), déjà, avait signalé la présence de ptomaïnes toxiques dans les cultures pures du *Bacillus enteritidis*, rencontré dans la viande altérée ayant occasionné une intoxication putride.

C'est peut-être, d'après cela, à la formation de ptomaïnes, par suite de leur envahissement par des Bactéries parmi lesquelles on trouve toujours l'espèce *Proteus vulgaris*, que nous venons de citer, qu'il faut attribuer certains empoisonnements causés par les viandes putréfiées. Cependant, en général, les ptomaïnes paraissent être moins toxiques que les toxalbumines et jouer un rôle bien moindre dans les diverses actions bactériennes; elles doivent tout à fait être reléguées au second plan.

Si ces résultats peuvent servir à expliquer, en tout ou en partie, l'action nuisible de certaines espèces, il n'en est pas de même pour d'autres, en plus grand nombre jusqu'à présent. Beaucoup de Bactéries pathogènes, pour l'homme ou les animaux, étudiées à ce point de vue, n'ont encore rien fourni. Nous reviendrons plus loin sur ces sujets importants, en parlant de l'action des Bactéries pathogènes sur l'organisme.

Produits divers.

Parmi les substances de déchet qui résultent de l'activité vitale de ces microbes, on rencontre en outre un grand nombre de produits intéressants. Les uns sont fixes, les autres volatils; certains contribuent à donner aux espèces qui les produisent des caractères importants.

Les produits fixes sont surtout formés d'acides (3), de composés amidés, et, au premier rang, on trouve toujours la leucine, la tyrosine, le glycocolle.

(1) Tito Carbone, Ueber die von Proteus vulgaris erzeugten Gifte (*Centralbl. für Bakt.*, 1890).

(2) Gaertner, Ueber die Fleischvergiftung in Frankenhausen und den Erreger derselben. Iéna, 1888.

(3) Hanna, On a method of estimating the production of acid by Bacteria in nutritiv media (*Journ. of Pathol. and Bacter.*, octobre 1898).

Les produits volatils sont d'abord des gaz (1), hydrogène, acide carbonique, carbures d'hydrogène, hydrogène sulfuré (2) et même hydrogène phosphoré ; puis des acides gras, acide butyrique, acide valérianique, entre autres ; enfin, des ammoniaques composées, des mercaptans, mercaptan de méthyle surtout, peut-être du mercaptan d'allyle, du phénol (3), de l'indol (4), du scatol. Ce sont certains de ces corps, ou le mélange de plusieurs, qui forment l'odeur, parfois bien particulière, que développent beaucoup de Bactéries.

La présence de quelques-uns de ces produits peut fournir des renseignements utiles à connaître; les meilleurs moyens à employer et les déductions à tirer seront exposés plus loin (Voy. *Procédés d'étude des produits formés dans les cultures*).

4. Reproduction.

D'ordinaire, lorsqu'une espèce trouve, dans le milieu où elle vit, les éléments nécessaires à son existence, elle se multiplie par *division*. Lorsque, au contraire, le milieu lui est défavorable, s'il ne renferme qu'une trop faible proportion de matières nutritives ou si elle se l'est elle-même rendu nuisible par suite de l'accumulation de ses produits de désassimilation, elle forme des *spores*. La présence de conditions mauvaises n'est cependant pas toujours la cause de formation de spores. Beaucoup d'espèces en forment en pleine période de végétation, tantôt constamment, tantôt seulement dans des conditions déterminées. C'est ainsi que le *Bacillus anthracis*, ensemencé dans du bouillon frais, donne, au bout de très peu de temps, de nombreuses spores dans les bâtonnets associés en longs filaments ; lorsqu'il se multiplie dans l'organisme animal, par contre, il le fait uniquement par division. Le *Bacillus subtilis* donne très facilement des spores dans tous les milieux où il peut végéter.

Multiplication par division. — C'est de beaucoup le mode le plus commun d'extension de l'espèce ; c'est peut-être le caractère le plus général qu'on puisse reconnaître aux êtres qui nous occupent, celui qui les a fait nommer *Schizomycètes*, *Schizophytes*. A proprement dire, ce n'est pas une reproduction véritable. Le phénomène de reproduction implique en effet l'idée de formation d'individus nouveaux ; dans la division vraie, un élément, préparé par divers changements qui se sont opérés en lui, en forme deux ou plusieurs, sans qu'aucun caractère ne puisse faire distinguer un élément producteur d'un élément produit. Il y a là un fait tout à fait comparable au bouturage et au marcottage des plantes supérieures. Ce sont des actes purement végétatifs, dans lesquels on ne peut voir une formation réelle de nouveaux êtres, mais simplement l'extension d'un même individu dans le temps et dans l'espace ; de telles cellules, issues de la division successive d'un même élément, ne représentent, à vrai

(1) Pammel, A contribution on the gases produced by certain bacteria (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., II, p. 633).

(2) Petri et Maasen, *Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, VIII, 1892-1893, p. 318 et 490.

(3) Lewandowsky, Ueber Indol und Phenolbildung durch Bakterien (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1890, n° 51).

(4) Morris, Studien über die Production von Schwefelwasserstoff, Indol und Merkptan bei Bakterien (*Arch. für Hygiene*, XXX, 1897, p. 304).

dire, qu'un corps à éléments dissociés et non pas un ensemble d'individus.

Il est facile d'observer la division de la cellule, chez certaines Bactéries en bâtonnets de grande taille. Il suffit d'en placer dans une goutte de liquide nutritif, de recouvrir d'une lamelle et de luter la préparation pour empêcher l'évaporation. Chez les espèces qui n'ont pas un grand besoin d'air pour croître, le développement peut s'observer ainsi pendant un temps assez long. Chez les Bactéries très avides d'oxygène, il faut recourir à d'autres procédés ; l'emploi des *chambres humides*, qui seront décrites plus loin, répond parfaitement au but que l'on se propose.

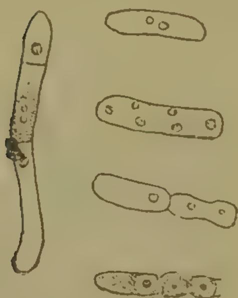


Fig. 20. — Bactéries du tartre dentaire du chien, 1200/1.

Lorsqu'une cellule est arrivée à une longueur qui semble fixe pour l'espèce dans des conditions qu'on peut admettre comme normales, il apparaît en son milieu une cloison très mince, hyaline, qui la divise en deux parties égales. Les phénomènes de la division de la masse protoplasmique ne sont pas connus, pas plus que le mode de formation de la cloison nouvelle, qui apparaît probablement au même moment dans toute son étendue, sécrétée par les deux portions du protoplasma qui ont dû subir une scission préalable. Si l'on considère comme de véritables noyaux les sphères réfringentes signalées plus haut (p. 21), la présence fréquente de deux de ces sphères (fig. 20) dans le milieu de bâtonnets qui ont atteint une longueur suffisante pour se diviser, conduirait à généraliser plus encore le rôle important que joue le noyau dans la division cellulaire. Quoi qu'il en soit, la cloison s'accentue, gagne en épaisseur ; sa partie moyenne se gélifie et écarte l'un de l'autre les deux individus résultant de la division du bâtonnet primitif. La figure 21, schématique, montre les différents stades du phénomène. Dans certains cas, la séparation est très nette, la partie moyenne gélifiée existe réellement. Souvent, au contraire, l'espace clair intermédiaire est une pure illusion d'optique ; les deux cylindres restent parfaitement juxtaposés ; il est facile de s'en convaincre en rapprochant un peu l'objectif de la préparation. Cette dernière disposition se rencontre surtout lorsque les bâtonnets restent accolés bout à bout en grand nombre. La couche médiane gélifiée est plus ou moins diffluente ; elle peut se dissocier entièrement, les deux cellules se séparent alors complètement. Lorsque les bâtonnets restent unis, il se forme des filaments de longueur d'autant plus grande qu'ils renferment plus d'articles. Les filaments sont droits ou brisés en des points de séparation des articles. Ils sont fréquemment courbés et parfois pelotonnés, de façon à produire des spirales enchevêtrées les unes dans les autres, de véritables tresses. C'est pour des formes de cette dernière sorte qu'a été créée la déno-

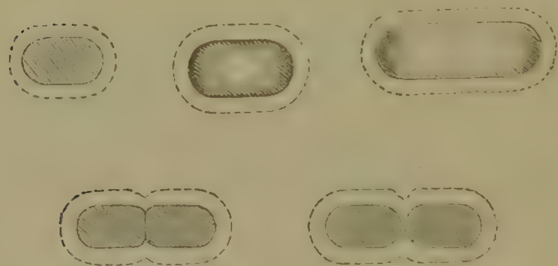


Fig. 21. — Schéma de la division des bâtonnets.

mination de *Spirulines*, qu'on a rapprochées à tort des vraies formes spiralées, des *Spirillum*. A preuve que cette disposition est purement accidentelle et secondaire, c'est qu'on rencontre tous les intermédiaires possibles entre les filaments à peine courbés et les amas de filaments irrégulièrement hélicoïdaux.

Il arrive parfois que la cloison de séparation de bâtonnets est si mince et si transparente, qu'il devient presque impossible de l'apercevoir ; on prend alors la chaîne pour un long filament simple. Il faut contracter le protoplasma des différentes cellules à l'aide de réactifs ou colorer la membrane avec une teinture, pour faire nettement apparaître la division.

Au lieu de rester unis les uns au bout des autres en filaments, certains Bacilles se séparent puis s'accolent latéralement, de manière à former des séries transversales parfois très longues. Vus de champ, de tels amas semblent, suivant le nombre des rangées, des chaînes ou des piles de *Micrococcus*. Chez le *Bacillus butyricus*, l'agent si répandu de la décomposition de la cellulose et de la fermentation butyrique de bien des matières ternaires, le bâtonnet, prêt à se diviser, devient immobile, puis se segmente en deux nouveaux éléments, qui se séparent et s'accolent intimement suivant leur longueur, en glissant l'un sur l'autre. Le phénomène se répétant un grand nombre de fois, il se forme des rangées droites, plus ou moins courbées ou disposées en zigzags, de bâtonnets réunis entre eux par de la substance mucilagineuse.

Chez les Bactéries sphériques, les choses se passent d'une manière analogue. L'élément rond s'allonge et devient ellipsoïdal ; il peut, à ce moment, avoir la forme d'un court cylindre à extrémités arrondies (fig. 22, *1*, *2*). Il se produit dans la région médiane un étranglement (fig. 22, *3*) ; c'est l'aspect décrit sous le nom de *biscuit à la cuiller* ou de *forme en haltères*. L'étranglement se prononçant de plus en plus, il en résulte la formation de deux coccus, semblables au premier (fig. 22, *4*). Les rapports qu'affectent entre eux les éléments issus de la division sont tout aussi variables que chez les Bacilles. Les coccus peuvent se séparer lors de la division et vivre isolés dans le liquide. On les trouve souvent unis deux à deux ; on nomme cette forme *Diplococcus* (διπλόος, double). Ou bien ils restent unis à plusieurs, en séries linéaires droites ou flexueuses : c'est la disposition désignée sous le nom de *Torula* (*torulus*, renflé en nœuds) ou de *Streptococcus* (στρεπτὸς, tourné). Le nom de *Staphylococcus* (σταφυλή, raisin) a été appliqué à des formes où les éléments, séparés dès la division, sont réunis plus tard en amas irréguliers qui ont été comparés, d'une façon assez peu heureuse, à des grappes de raisin.

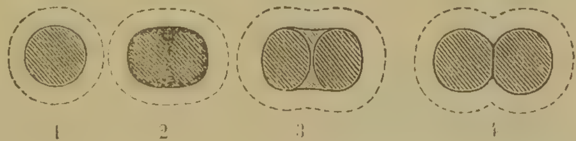


Fig. 22. — Schéma de la division chez les Micrococcus.

On a voulu faire, de ces différences de situation des éléments, des signes de première importance et les élever au rang de caractères génériques. Les genres *Diplococcus*, *Streptococcus* et *Staphylococcus* ne peuvent guère être maintenus, comme coupes de l'ancien genre

Micrococcus, si l'on remarque que les caractères sur lesquels on se base pour les établir varient dans des limites fort larges, et que souvent les variations dépendent exclusivement des conditions de milieu. La forme seule en *Diplococcus* semble plus constante et plus fixe, surtout pour les espèces où les deux éléments accolés sont devenus asymétriques, par suite de l'aplatissement de leur face médiane. De plus, lorsque ces *Diplococcus* s'unissent en chaînes, l'arrangement par



Fig. 23. — Diplococcus asymétriques.

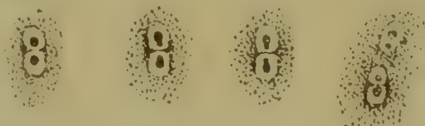
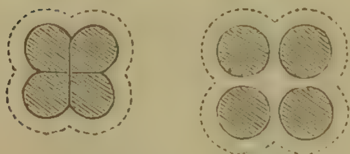


Fig. 24. — Diplocoques de la pneumonie.

couples persiste, très évident ; l'espace, qui sépare deux couples de la chaîne, est notablement plus grand que celui qui sépare deux éléments d'un même couple (fig. 23). Ces dénominations de *Diplocoques*, *Streptocoques* et *Staphylocoques* sont cependant très utiles à conserver; elles peuvent fournir des points de repère importants et faciles à constater pour la diagnose des espèces.

La division ne semble pas toujours se faire d'une façon aussi régulière, aussi typique, chez les *Micrococcus*. Dans bien des cas, les deux éléments, provenant d'un même acte de multiplication, ne sont pas égaux. L'un des deux est toujours sensiblement plus petit que l'autre ; dans les *Diplocoques*, c'est toujours le plus rapproché du centre du couple primitif (fig. 24). Il y a là un lien évident avec le mode de multiplication par bourgeonnement, si fréquent chez les Levures. La couche externe gélifiée de la membrane peut se séparer lors de la division, elle montre alors un étranglement bien net au niveau de la séparation des éléments, ou persiste comme une gaine unie autour de deux ou plusieurs cellules qui se touchent alors par une face.



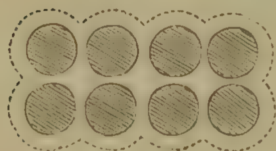


Fig. 25. — Schéma de la production de tétrades.

Au lieu de se faire dans une seule direction, comme dans les cas précédents, la division peut s'opérer dans plusieurs directions à la fois, soit simultanément, soit plutôt successivement.

Une cellule de *Micrococcus tetragenus* se divise suivant deux plans perpendiculaires ; il se forme ainsi une *tétrade* (fig. 25), dont les éléments se comportent comme celui qui leur a donné naissance, et constituent, après avoir proliféré un certain nombre de fois, de petites tablettes aplaties, des *lames*.

Chez les *Sarcines*, le phénomène est encore plus compliqué. Une des cellules arrondies s'agrandit et se divise suivant trois directions, par trois plans perpendiculaires. Le résultat est un petit cube de huit éléments, qui se diviseront ensuite comme la sphère primitive. Lorsque

le phénomène se sera répété, il aura produit une masse cubique plus ou moins volumineuse, formée de nombreux cubes plus petits, de petits paquets de huit éléments chacun (fig. 26).

Le mode de formation de ces tétrades et de ces masses cubiques n'est pas encore exactement connu. J'ai reconnu chez la *Sarcina lutea*, espèce très commune dans l'air et dans l'eau, que la division se passait de la façon suivante : une cellule, prête à se diviser, s'allonge transversalement et se partage en deux parties égales, formant ainsi un diplocoque, comme le représente la figure 22. Chacun des deux éléments produits est le siège du même phénomène ; on obtient une tétrade. Mais la direction de l'allongement de ces deux éléments, et par conséquent la direction du plan suivant lequel s'opère la division, est perpendiculaire à celle de sa première opération. Les quatre cellules de la tétrade, à leur tour, se divisent en même temps comme les précédents, mais dans un troisième plan perpendiculaire aux deux autres. Ce n'est donc que successivement et non d'emblée qu'on arrive à obtenir les colonies massives caractéristiques.

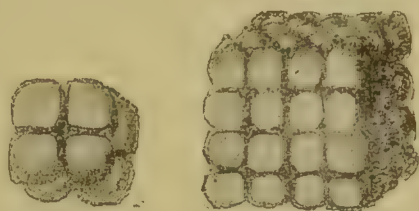


Fig. 26. — Schéma de la formation de paquets de Sarcines.

La rapidité de la multiplication par division est fonction directe de la nutrition. Elle s'opère d'autant plus vite que les conditions de nutritivité sont meilleures, conditions de milieu alimentaire, conditions de température, d'aération, etc. Quand le milieu est épuisé, la division s'arrête ; les éléments tombent au fond du vase et y forment un sédiment d'aspect variable suivant l'espèce.

Quand le milieu est favorable, elle se produit avec une activité étonnante. C'est ce qui explique l'envahissement si rapide de certains milieux par les Bactéries. D'après Cohn (1), il faut deux heures aux bâtonnets, issus de la division d'un bâtonnet primitif, pour se diviser à leur tour. En calculant sur cette base, un élément qui trouverait réunies de bonnes conditions de milieu et n'aurait à subir aucune influence mauvaise, arriverait à en produire, au bout de trois jours, quatre mille sept cent soixante-douze billions. Heureusement pour l'homme, cette prodigieuse fécondité se trouve enrayée à chaque instant.

Reproduction par spores. — La multiplication par division a été pendant longtemps considérée comme le seul mode de propagation des Bactéries. Les cellules ainsi produites ne présentent, en général, qu'une faible résistance aux agents de destruction et une résistance d'autant plus faible qu'elles sont plus jeunes ; la vie de l'espèce se trouverait donc compromise, si elle n'avait pas à sa disposition le moyen de surmonter ces difficultés. Ce moyen, c'est la *spore*. Lorsqu'une espèce se trouve dans ces conditions défavorables, quand le milieu nutritif s'épuise, quand arrive une privation d'eau, d'oxygène, etc., il se forme dans les cellules, par condensation de leur protoplasma, des éléments résistants

(1) Cohn, Untersuchungen über Bacterien (*Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, vol. I, 2e et 3e p.).

capables de traverser ces périodes difficiles, des *spores durables* (Dauersporen). Ce n'est cependant pas dans ces seules conditions d'existence difficile que les Bactéries forment des spores. Souvent même la formation de spores se fait normalement en dehors de toute mauvaise condition d'existence ; c'est un puissant moyen de rajeunissement de l'espèce.

Les spores ont été décrites pour la première fois par Pasteur, en 1869 (1). Suivant ses observations, le Bacille de la *flacherie* des vers à soie, après s'être reproduit quelque temps par division, forme, dans certaines de ses cellules, des *noyaux brillants*, qui sont de véritables *germes*, mis en liberté par résorption du bâtonnet. Ces germes supportent longtemps la dessiccation en conservant leur vitalité. Ce sont là les caractères essentiels des spores. Cohn (2) a observé plus tard et décrit avec détails précis la formation de la spore du *Bacillus subtilis* ; Koch (3) en a suivi pas à pas le développement dans les cultures du *Bacillus anthracis*. Depuis, ce mode de reproduction a été constaté chez de nombreuses espèces. Beaucoup d'autres ne l'ont jamais présenté, soit qu'elles ne le possèdent pas réellement, soit plutôt que l'on n'ait pas encore pu réaliser les conditions spéciales qui lui sont nécessaires pour se produire.

Lorsqu'un article va former une spore, s'il est mobile, il s'arrête ; il se gonfle souvent, dans toute son étendue ou seulement en un point ; son protoplasma devient trouble, granuleux, il s'y fait une sorte de réserve nutritive, parfois amylacée, facile alors à constater avec l'iode qui donne la coloration bleue caractéristique. Chez le *Bacillus butyricus*, par exemple, le protoplasma se contracte, se sépare de la membrane, qu'il laisse alors apparaître nettement avec un double contour. Dans le contenu se montre un point clair, une sorte de vacuole, qui grandit, prend une grande réfringence et s'entoure d'une membrane propre, assez épaisse. La spore est formée. C'est un petit corps sphérique ou ovalaire, à contours sombres, dont la masse centrale est dépourvue de granulations. Elle est d'habitude incolore ; les spores du *Bacillus erythrosporus* sont colorées en rouge terne. Le contenu est une gouttelette très réfringente, ayant l'aspect d'une goutte de matière grasse. Pour Koch même, la spore du *Bacille du charbon* est formée d'une gouttelette graisseuse entourée d'une mince enveloppe protoplasmique et d'une membrane résistante. La gouttelette graisseuse lui donne sa forte réfringence et sert de réserve nutritive pour la germination. Brefeld et Prazmowski croient, au contraire, que la partie centrale réfringente est du protoplasma. C'est ce que semblent prouver les recherches de Nencki (4), qui a démontré que chez le Bacille du charbon et des Bactéries de putréfaction, les spores sont beaucoup plus riches en matière azotée que les Bacilles et que la matière albuminoïde se forme surtout au moment de la sporulation. La membrane qui l'entoure est épaisse ; on peut parfois lui distinguer deux couches : l'*endospore* appliquée sur le protoplasma central, et l'*exospore* qui en est la partie la plus externe.

(1) Pasteur, Études sur les maladies des vers à soie. Paris, 1870.
(2) Cohn, Untersuchungen über Bacterien (*Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, Bd I, 2e p.).
(3) R. Koch, Die Ætiologie der Milzbrandkrankeit (*Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, Bd II, p. 277).
(4) Nencki, Beiträge zur Biologie der Bacterien (*Virchow's Arch. für pathol. Anat.*, 1879).

A côté de la spore se trouve un petit amas granuleux, reste du protoplasma qui n'a pas été employé à sa formation.

Il ne se forme probablement qu'une seule spore par article dans les filaments; la grande minceur des cloisons, ou leur disparition, peuvent

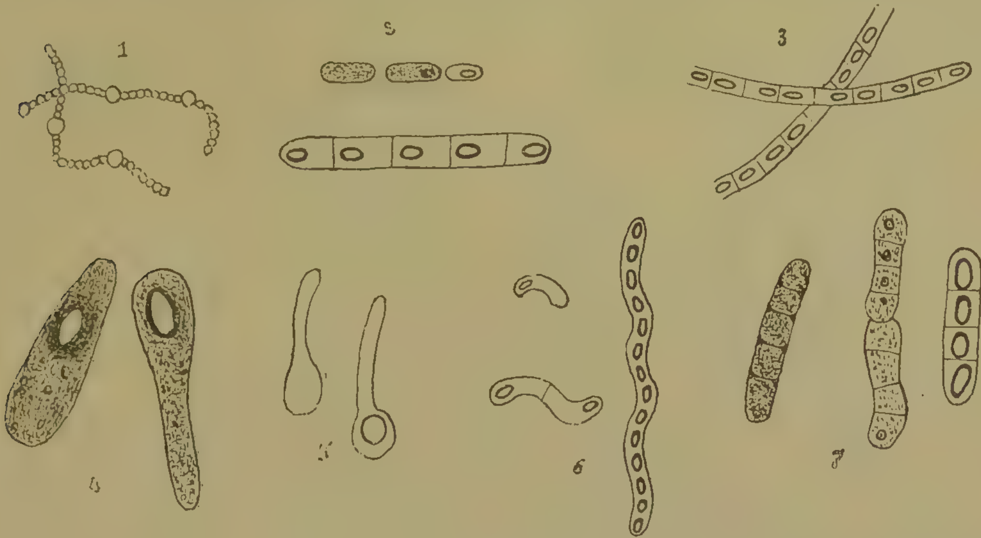


Fig. 27. — Formation des spores.

1, chez *Leuconostoc mesenteroides*; *2*, chez *Bacillus subtilis*; *3*, chez *Bacillus anthracis*; *4*, chez *Bacillus butyricus*; *5*, chez *Spirillum rugula*; 6, chez une espèce de *Spirillum*; 7, chez *Bacillus megaterium*.

faire croire à la présence de chapelets de spores. La spore peut être plus petite ou égale en diamètre au filament. Elle est souvent plus grosse; dans ce cas, le bâtonnet se renfle à l'endroit où se produit la spore, prend une forme de fuseau quand elle se produit en son milieu, de massue ou de têtard quand elle se produit à une extrémité (fig. 27, *4*, *5*).

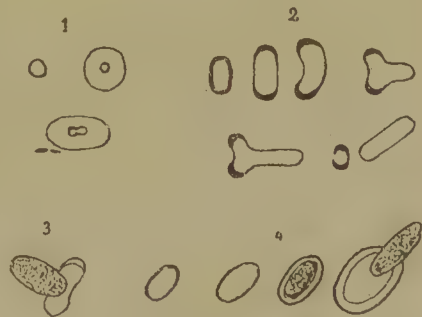


Fig. 28. — Germination des spores.

1, *Leuconostoc mesenteroides*; *2*, *Bacillus subtilis*; *3*, *Bacillus megaterium*; *4*, *Bacillus butyricus*.

Les spores sont mises en liberté par gélification de la membrane des bâtonnets qui les ont produites. Tantôt elles peuvent germer de suite, tantôt elles ont besoin d'une période de repos. La germination se fait dans la direction du filament mère, ou, plus rarement, dans un sens perpendiculaire (1). Il est facile de se rendre compte de ces différences en observant des spores ovales. Lorsque la spore est dans des conditions convenables pour germer, elle pâlit, la membrane se rompt, il en sort un petit prolongement qui, en très peu de temps, gagne l'aspect et les dimensions des cellules végétatives ordinaires de l'espèce. Pour les auteurs qui admettent la présence de deux couches à la membrane, c'est l'exospore qui se rompt; l'endospore constitue la membrane du jeune bâtonnet. Les deux valves de la membrane restent parfois accolées plus

(1) Grethe, Ueber die Keimung der Bakteriensporen (*Fortschr. der Med.*, 1897, p. 43, 81, 135).

ou moins longtemps à la base du bâtonnet qui en est sorti, puis elles se gélifient et se dissolvent. On peut observer la germination des spores en prenant des cellules qui en renferment et en les mettant dans une gouttelette de liquide nutritif, après avoir pris la précaution de dessécher légèrement les spores sur la lamelle pour les empêcher de se répandre dans le liquide.

La succession de ces phénomènes s'observe on ne peut mieux sur la

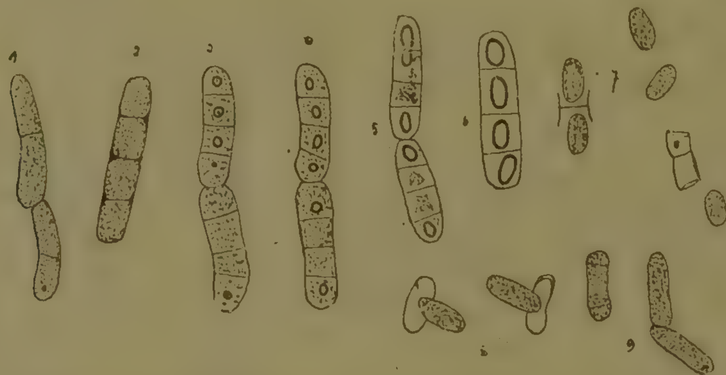


Fig. 29. — *Bacillus megaterium*, 600/1, d'après De Bary.

figure 29, qui représente, d'après De Bary, les divers stades du développement du *Bacillus megaterium*. Les bâtonnets qui vont sporuler se segmentent de façon à donner des articles beaucoup moins longs (*2*) que les cellules végétatives ordinaires (*1*). Dans chacun d'eux, il apparaît, au centre du protoplasma granuleux, un noyau qui, d'abord très petit (*3*, *4*) grandit peu à peu et prend les caractères des spores (*5*, *6*). Lorsque la spore est bien formée, la membrane des bâtonnets pâlit, devient diffluente et laisse sortir, en se déchirant, les spores qui se trouvent libres dans le liquide ambiant (*7*). La spore germe au bout de peu de temps ; sa membrane se rompt dans le sens du petit diamètre de l'ovale qu'elle forme ; il en sort un prolongement hyalin qui croît et donne une cellule végétative ordinaire (*8*, *9*). Les débris de la membrane de la spore disparaissent rapidement par gélification.

Les phénomènes peuvent se passer autrement. Chez le *Bacillus subtilis* et les autres espèces très voisines confondues sous le nom de *Bacilles du foin*, la spore se transforme directement en bâtonnet. Elle grandit en même temps qu'elle perd sa réfringence et devient pâle ; elle prend une forme cylindrique et bientôt ne se différencie plus des cellules végétatives ordinaires.

Les particularités qui viennent d'être décrites sont les phénomènes généraux, typiques, pour ainsi dire, de la formation des spores. Plusieurs espèces étudiées à ce point de vue présentent des différences dont quelques-unes sont intéressantes à connaître.

Chez les *Bacillus subtilis*, *B. anthracis*, *B. megaterium* (fig. 27, *2*, *3*, *7*), les spores ont une largeur moindre que la cellule mère.

Les bâtonnets de *Bacillus butyricus* se renflent à l'endroit où se produit la spore et prennent une forme de têtard ou de fuseau (fig. 27, *4*). De plus, au moment où ils vont sporuler, le protoplasma renferme une assez forte quantité de matière amylacée soluble, de granulose, qui leur donne la propriété de bleuir, lorsqu'on les traite par l'iode. D'après

Prazmowski (1), au moment de la germination, il se forme, à l'un des pôles, un orifice par résorption de la membrane; c'est par ce trou que sort la jeune cellule, sous forme d'un prolongement hyalin (fig. 28, *4*). La spore de cette espèce, transportée dans un milieu nutritif frais, germe au bout de une heure et demie à deux heures.

La spore du *Spirillum rugula* se forme toujours à une extrémité qui se renfle fortement; le bâtonnet, légèrement courbé, prend la forme d'une grosse virgule ou d'une massue (fig. 27, *5*).

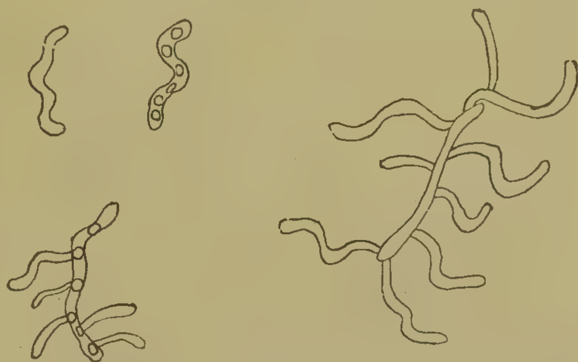


Fig. 30. — *Spirillum endoparagogicum*, d'après Sorokin.

Les Bactéries en spirales se divisent en articles, qui produisent chacun une spore de diamètre plus petit que le leur (fig. 27, *6*). Les spores du *Spirillum endoparagogicum* germent dans l'intérieur du filament mère, qui peut porter les Spirilles de seconde génération comme autant de rameaux latéraux (fig. 30).

Les espèces qui présentent les phénomènes ci-dessus décrits ont des spores formées à l'intérieur des cellules végétatives; ce sont des *Bactéries endosporées*. Beaucoup d'autres Bactéries, les formes sphériques notamment, présentent une moins grande complexité; il est difficile ou même impossible de distinguer leurs spores des cellules ordinaires, si tant est qu'elles en produisent. C'est à ces espèces que De Bary (2) réserve le nom de *Bactéries arthrosporées*. Les cellules, qui vont être des *arthrospores*, se différencient très peu, souvent même pas du tout, des voisines; la cellule entière, en se modifiant peu ou même pas comme aspect, se transformerait en spore. La seule caractéristique vraie de ces arthrospores est la résistance plus grande aux causes de destruction et la propriété de donner naissance, après leur isolement, à de nouvelles colonies. Il faut même refuser ces spores exogènes à bien des *Micrococcus*, qui sont tués par de faibles élévations de température qui respecteraient certainement des éléments quelque peu durables.

Prove (3) a décrit la formation des spores dans une espèce de *Micrococcus* qu'il a isolée de l'urine, le *Micrococcus ochroleucus*. Les dimensions des éléments ordinaires, sphériques, sont de 0,5 μ à 0,8 μ. Ceux qui vont sporuler se gonflent jusqu'à atteindre un volume triple; il se forme à leur intérieur une sphère réfringente qui peut avoir 1,6 μ de diamètre. Les cultures qui renferment de tels éléments fertilisent encore de nouveaux milieux après avoir été soumises pendant une demi-heure à une température de 100°. Ce sont bien là les caractères essentiels des spores.

(1) Prazmowski, Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterienarten. Leipzig, 1880.

(2) De Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze Mycetozoen und Bacterien. Leipzig, 1884; et Leçons sur les Bactéries, traduction par Wasserzug. Paris, 1886.

(3) Prove, Micrococcus ocholeucus eine neue chromogene Spaltpilzform (*Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, IV, 3, p. 409, 1887).

Chez les *Sarcines*, la formation des spores n'a été observée que sur une espèce, *Sarcina pulmonum*, isolée par Hauser (1) des crachats d'un phtisique. Certains éléments des cultures augmentent de volume ; leur contenu devient trouble. La partie centrale la plus considérable de ce contenu se contracte et acquiert une plus grande réfringence, pendant qu'il se forme à sa périphérie une sorte de membrane sombre. Il se constitue ainsi un corps sphérique, brillant, très réfringent, mesurant de 0,6 μ à 0,8 μ de diamètre. Cette spore peut être mise en liberté par la diffluence de la membrane de la cellule mère. Elle a les propriétés habituelles, en particulier la grande résistance aux agents de destruction ; elle résiste à une température de 110 degrés.

Chez le *Leuconostoc mesenteroides* de la *gomme de sucreries*, il se forme de véritables *arthrospores*, bien étudiées par Van Tieghem (2). Quelques cellules, éparses dans les chapelets sinueux de coccus, deviennent plus grosses que les autres, gagnent un aspect plus réfringent et épaississent leur membrane. Ce sont des spores véritables (fig. 27, *1*), car seules elles résistent à la dessiccation et à la privation de nourriture. Semées dans un milieu frais, leur membrane externe dure se rompt ; il se forme aux dépens de la couche interne une épaisse gaine de gelée, enveloppant la masse protoplasmique centrale, qui, par division, a bientôt donné naissance à un des chapelets si particuliers à l'espèce (fig. 12, p. 28, et fig. 27, *1*). Les *Cladothrix* paraissent former leurs spores en longs chapelets par la simple segmentation des filaments ; ce sont des arthrospores typiques (fig. 12, p. 28).

Il est des cas où il paraît se former, par simple condensation du protoplasma des éléments, des masses réfringentes, dépourvues d'enveloppe propre, que l'on doit très probablement considérer comme des spores moins perfectionnées ; elles résisteraient aussi plus aux causes de destruction que le protoplasma ordinaire et auraient peut-être certain rapport avec des granulations dont il a été parlé précédemment (p. 24).

Le caractère principal de la spore est sa résistance à des conditions de vie que les simples cellules végétatives ne peuvent traverser sans périr (3). Beaucoup supportent des températures de 100° et au-dessus sans perdre leur faculté germinative. Une dessiccation prolongée, l'oxygène comprimé, la privation d'air, qui tuent très vite les éléments végétatifs, sont sans action sur la spore. Cette résistance aux agents de destruction paraît due, en grande partie, à l'extrême cohésion de la membrane, qui est telle que Büchner (4) a pu faire germer des spores de *Bacillus subtilis* ayant séjourné dans de l'acide sulfurique concentré. La spore ne l'offre qu'après s'être entourée de sa membrane ; très jeune, elle est aussi sensible que les éléments ordinaires ; il en est de même au moment où elle se modifie pour la germination. De là vient aussi la difficulté qu'on éprouve à colorer les spores ; on verra plus loin qu'il faut, pour y arriver, vaincre l'imperméabilité de la membrane, en faisant agir sur elle la chaleur, les acides ou les alcalis, pour permettre aux

(1) Hauser, Ueber Lungensarcine (*Deutsche Arch. für klin. Med.*, 1887, p. 127).
(2) Van Tieghem, Sur la gomme de sucreries (*Ann. des sc. nat.*, *Bot.*, 6e série, VII).
(3) Swan, Resisting vitality of spores of Bacillus (*Ann. of Bot.*, 1893, no 3).
(4) Buchner, Ueber das Verhalten der Spaltpilzsporen gegen Anilinfarbstoffe (*Aertzliche Intelligenzbl.*, 1884).

solutions colorantes de diffuser dans son intérieur et imprégner le protoplasma central.

Si l'on rapproche de ces caractères des spores leur extrême petitesse et leur transport facile par l'air ou d'autres véhicules, on comprendra facilement quel grand rôle elles doivent jouer dans la dispersion des Bactéries et la contamination des milieux morts ou vivants.

Le *Bacille du charbon*, sous des influences peu déterminées encore, peut perdre la propriété de produire des spores dans les conditions où il les forme normalement. Chamberland et Roux (1) l'ont observé sur des filaments soumis quelque temps à l'action d'une solution faible de bichromate de potasse, ou mieux, comme Roux l'a remarqué depuis (2), en ajoutant au bouillon qui sert pour les cultures une petite proportion d'acide phénique, de 2 à 20 p. 10000. Les cultures n'en présentent plus, même après un grand nombre de générations. Elles conservent cependant leur pouvoir pathogène; inoculées à des cobayes, elles les font rapidement périr; les Bactéries qui ont passé par l'organisme sont tout aussi incapables de former des spores. Lehmann (3) a observé plus récemment le même fait. Il a isolé une variété « asporogène » du *Bacille du charbon* de cultures sur gélatine longtemps renouvelées. Dans les cultures sur pomme de terre de cette race, il a observé des sphères plus rondes et plus petites que les spores ordinaires, qu'il nomme *microspores*. C'est à tort qu'il les rapproche des spores vraies; elles n'en possèdent pas les propriétés biologiques; chauffées à 60°, elles perdent toute virulence et périssent; il n'en a jamais observé la germination.

Behring (4) a obtenu du charbon asporogène en cultivant du charbon normal dans de la gélatine additionnée d'acide chlorhydrique ou d'acide rosolique, pendant deux à trois mois, à la température de la chambre. Physalix (5) est arrivé au même résultat en faisant des cultures en série à 42°. Surmont et Arnould (6), après avoir essayé ces différents procédés, donnent la préférence au procédé de Roux à l'acide phénique. Certaines cultures de *Bacille du charbon* offrent une très grande résistance aux agents capables de les transformer en races asporogènes; il faut alors, pour réussir, diminuer un peu la vitalité du microbe en faisant des cultures successives à une température de 42° qui est déjà pour cette espèce une température dysgénésique.

II. — ACTION DE DIFFÉRENTS AGENTS SUR LES BACTÉRIES.

Les Bactéries sont soumises, au même titre que les autres êtres, à l'influence des milieux dans lesquels elles se trouvent. Suivant la composition chimique, suivant l'état physique de ces milieux, il se produit, pour une espèce donnée, des modifications dans les propriétés et les

(1) Chamberland et Roux, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1883, p. 1090.

(2) Roux, Bactéridie charbonneuse asporogène (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1890).

(3) Lehmann, Ueber die Sporenbildung bei Milzbrand (*Münch. med. Wochenschr.*, 1887, n° 26).

(4) Behring, Beiträge zur Ætiologie des Milzbrandes (*Zeitschr. für Hygiene*, VII, 1889).

(5) Physalix, Influence de la chaleur sur la propriété sporogène du *Bacillus anthracis* (*Arch. de phys.*, 1893, p. 217).

(6) Surmont et Arnould, Recherches sur la production du *Bacille du charbon* asporogène (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1894, p. 817).

manifestations vitales. Il est, pour elles, des substances et des conditions favorables à l'accroissement, d'autres qui entravent leur multiplication et suppriment complètement la possibilité de vivre. Les influences mauvaises arrêtent d'abord les manifestations extérieures, chimiques ou biologiques, tout en laissant la nutrition se faire tant bien que mal. Si leur action continue, la nutrition est suspendue, la multiplication végétative ne peut plus se faire, la mort peut survenir ; c'est alors parfois que se produisent les spores, pour résister à des conditions qui font périr les simples cellules végétatives.

Nous étudierons en premier lieu l'action de quelques substances chimiques et ensuite celle des agents physiques les plus importants.

De plus, dans les différents milieux où peuvent se développer des Bactéries, vivent fréquemment d'autres êtres, organismes inférieurs plus ou moins différents ou même espèces voisines, dont l'influence sur les premières est souvent importante. Il est nécessaire d'en tenir compte et de signaler au moins les faits, s'il n'est pas encore possible de donner sur ce point des idées générales bien assises.

1° Agents chimiques.

L'*oxygène* est absolument nécessaire aux aérobies. Lorsqu'on veut les cultiver dans des gaz inertes, l'azote ou l'hydrogène, par exemple, on n'obtient aucun résultat. Par contre, dans des conditions particulières, la présence d'air peut considérablement nuire. Duclaux (1) a démontré que lorsqu'une espèce a épuisé son milieu nutritif, si elle trouve de l'oxygène en abondance, elle s'affaiblit peu à peu et meurt au bout d'un temps qui doit être assez long. Si, au contraire, elle n'a à consommer que de très minimes portions de ce gaz, sa vitalité se conserve bien plus longtemps que dans le premier cas.

Lorsqu'on laisse *vieillir*, en présence de l'air, une culture de *Micrococcus du choléra des poules*, sa virulence diminue graduellement et il arrive un moment où on la trouve éteinte. Pasteur (2), en maintenant indéfiniment la virulence d'une même culture faite à l'abri de l'air, a prouvé que le phénomène était bien dû à l'oxygène.

Cette influence débilitante de l'oxygène ne paraît agir que sur les cellules végétatives. Les spores lui résistent, en conservant, même au bout d'un temps très long, la propriété de germer. Elles reproduisent alors des cellules douées des qualités typiques de l'espèce.

C'est pourquoi il a fallu, dans la préparation de cultures atténuées par l'air pour la vaccination, écarter toute présence de spores. Pasteur et ses savants collaborateurs Chamberland et Roux (3) ont réussi à le faire pour la *Bactérie du charbon* en la cultivant, dans des bouillons, à 42-43°. A cette température, en effet, le développement est abondant, mais la formation des spores est impossible.

Ce que fait le contact prolongé de l'oxygène, l'oxygène comprimé le produit en très peu de temps. P. Bert (4), en se servant d'oxygène com-

(1) Duclaux, Chimie biologique, p. 115.

(2) Pasteur, De l'atténuation du virus du choléra des poules (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XC, 1880, p. 673).

(3) Pasteur, Chamberland et Roux, Le vaccin du charbon (*Ibid.*, XCII, 1881, p. 666).

(4) P. Bert, Oxygène comprimé (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXX, p. 1579, et LXXXIV, p. 1130).

primé à 8 ou 10 atmosphères, arrêtait la fermentation et la putréfaction. Les cellules végétatives sont tuées, mais les spores, comme l'a montré Pasteur (1), supportent sans périr ces conditions, si toutefois elles n'agissent pas pendant une durée trop longue.

Pour les anaérobies, la chose est tout autre. L'oxygène libre est un véritable agent toxique. Ils ont peut-être besoin, pour commencer à végéter, d'en avoir à consommer des quantités très minimes ; la proportion qui se trouve dans l'air est de beaucoup trop forte et les tue.

D'après les recherches de P. Bert et Regnard (2), l'*eau oxygénée* arrêterait la fermentation et la putréfaction : les solutions du commerce à 10 ou 12 volumes ont, d'après Lucas-Championnière (3), une puissance antiseptique très notable. Chappuis (4), Christmas (5), considèrent l'*ozone* comme très nuisible aux Bactéries, ce que n'ont guère confirmé les recherches de d'Arsonval (6) et de Charrin. Les recherches d'Ohlmüller (7) paraissent toutefois bien établir le pouvoir microbicide très net de ce corps ; on songe même actuellement à l'utiliser pour la stérilisation en grand des eaux potables (8).

L'*hydrogène* et l'*azote* semblent n'avoir aucune action sur les Bactéries ; aussi est-ce à eux, au premier surtout, à cause de la facilité plus grande de sa préparation, que l'on doit s'adresser lorsqu'on veut obtenir un milieu gazeux inerte, pour la culture des anaérobies, par exemple.

L'*acide carbonique* peut, d'après Kolbe (9), empêcher pendant assez longtemps la putréfaction de la viande. Sa présence serait nuisible au moins pour beaucoup d'espèces aérobies.

Cependant les expériences de Fraenkel (10) montrent que cette nocivité de l'acide carbonique est loin d'être aussi générale qu'on le pensait. Le *Bacille typhique*, le *Pneumocoque de Friedländer*, le *Bacille de la fermentation lactique* de Hueppe, entre autres, végètent tout aussi bien dans l'acide carbonique que dans l'air; d'autres, *Micrococcus prodigiosus*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus phosphorescens*, s'y développent aussi, mais lentement et peu abondamment. Le *Bacille du charbon*, le *Spirille du choléra*, par contre, ne montrent aucun développement dans ces mêmes conditions.

L'*oxyde de carbone* n'aurait aucun effet délétère.

(1) Pasteur, Atténuation du virus charbonneux (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCII, 1881).

(2) P. Bert et Regnard, Influence de l'eau oxygénée sur la fermentation (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 22 mai 1882, et *Gaz. méd.*, 1880).

(3) Lucas-Championnière, Sur la valeur antiseptique de l'eau oxygénée (*Acad. de méd.*, 6 déc. 1898).

(4) Chappuis, Action de l'ozone sur les germes contenus dans l'air (*Bull. de la Soc. chim.*, 1881, p. 290).

(5) Christmas, Valeur antiseptique de l'ozone (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1893, p. 776).

(6) D'Arsonval, Sur la production de l'ozone concentré et sur ses effets bactéricides (*Soc. de Biol.*, 5 juillet 1895).

(7) Ohlmuller, Ueber die Einwirkung des Ozons über Bakterien (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, VIII, p. 228).

(8) Van Ermenghem, De la stérilisation des eaux par l'ozone (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 673). — Weyl, Keimfreies Trinkwasser mittelst Ozon (*Centralbl. für Bakt.*, 1899, XXVI, p. 15). — Marmier et Abraham, La stérilisation industrielle des eaux potables par l'ozone (*Revue d'hyg.*, 1899, nº 6, p. 540).

(9) Kolbe, *Journ. für prakt. Chemie*, vol. XXVI.

(10) Fraenkel, Die Einwirkung der Kohlensäure auf die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen (*Zeitschr. für Hygiene*, V).

L'action de l'*hydrogène sulfuré* sur les Bactéries paraît être des plus variables.

Plusieurs espèces peuvent vivre et prospérer dans des milieux contenant de fortes proportions de ce gaz. Les Bactéries pullulent souvent dans les eaux sulfureuses. Miquel (1) a isolé d'une eau d'égout une Bactérie anaérobie qui produit de fortes quantités d'H^2S, *Bacillus sulfhydrogenus*. La présence de ce gaz devient toutefois nuisible lorsqu'il atteint une certaine tension. Rosenheim (2) a retiré d'une urine, contenant dès son émission de fortes quantités d'hydrogène sulfuré, une Bactérie ne liquéfiant pas la gélatine, et pullulant très lentement dans l'urine fraîche, où elle donne un abondant dégagement de ce gaz. Beaucoup d'espèces communes en donnent de notables proportions lorsqu'elles trouvent du soufre à attaquer, libre ou faiblement combiné, dans l'albumine par exemple. La réaction se produit probablement de la façon suivante : l'hydrogène, mis en liberté par l'absorption d'oxygène provoquée par la Bactérie, réagit à l'état naissant sur les composés qui retiennent assez faiblement leur soufre, et donne de l'hydrogène sulfuré.

L'hydrogène sulfuré, très toxique pour les plantes vertes, l'est bien moins ici à cause de l'absence de chlorophylle, sur laquelle se porte surtout son action nuisible.

L'*hydrogène protocarboné*, qui se produit toujours dans la fermentation de la cellulose, et l'*hydrogène phosphoré*, si commun dans les putréfactions, paraissent n'avoir aucune action.

Les *anesthésiques*, chloroforme ou éther, n'ont pas sur ces cellules d'action bien énergique. L'activité vitale est ralentie, et, par suite, ses manifestations, mais de hautes doses même n'arrivent pas à la suspendre complètement chez les espèces assez résistantes. Jalan de la Croix (3) n'a pas réussi à rendre stériles des bouillons additionnés de fortes proportions de chloroforme. Cependant, les espèces peu résistantes, le *Streptocoque pyogène* par exemple, sont facilement tuées dans ces conditions.

L'*iode* a des propriétés bactéricides assez marquées. Podgorny (4) a observé qu'il tuait le *Bacille du charbon* en proportion de 1 p. 1 500, le *Bacille de Lœffler* à 1 p. 1 350, le *Colibacille* à 1 p. 1 200, le *Bacille d'Eberth* à 1 p. 600, le *Bacille virgule* du choléra à 1 p. 360, après un contact de cinq à trente minutes.

Le *brome* est très actif également. Il suffirait de 6 centigrammes pour stériliser un litre d'eau assez riche en microbes (5).

L'*alcool* n'a qu'une action faible et incertaine; les espèces délicates seules succombent à une courte immersion dans le liquide ; les espèces résistantes supportent un contact prolongé (6).

(1) Miquel, Sur la fermentation sulfhydrique (*Bull. de la Soc. chim.*, XXXII, p. 12).
(2) Rosenheim, Société de médecine interne de Berlin, 6 juin 1887.
(3) Jalan de la Croix, Das Verhalten der Bacterien des Fleischwassers gegen einige Antiseptica (*Arch. für experim. Path.*, XIII, 1881, p. 175).
(4) Podgorny, De l'action de l'iode sur les microbes pathogènes. Thèse de Saint-Pétersbourg, 1897.
(5) Schumburg, Ein neues Verfahren zur Herstellung keimfreien Trinkwassers *Deutsche med. Wochenschr.*, 1897, n° 10.
(6) Minervini, Ueber die baktericide Wirkung des Alkohols (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIX, 1898, p. 117).

L'*aldéhyde formique*, ou *formol*, est beaucoup plus active. D'après les recherches de Trillat (1), Aronsohn (2), Miquel (3) et autres, son action destructive sur les microbes est des plus notables. Une dose de 5 centigrammes par litre empêcherait tout développement pour le *Bacille du charbon*, le *Bacille de la diphtérie*, le *Bacille pyocyanique*, le *Colibacille*, le *Bacille typhique*, le *Staphylocoque doré*. Pottevin (4) a démontré que des spores très résistantes, comme celles du *Bacillus subtilis*, pouvaient être tuées après un contact de quelques heures avec une solution concentrée à 30 ou 40 p. 100 ou les simples vapeurs d'aldéhyde. Ces vapeurs sont beaucoup plus actives sur les simples éléments végétatifs, qui meurent d'une façon sûre après un contact moins prolongé. Toutefois, l'action des vapeurs paraît bien être toute superficielle et se limiter à une couche peu épaisse sous laquelle les effets microbicides ne s'observent plus ou seulement très faiblement.

Les substances chimiques qui entravent ou arrêtent le développement des Bactéries dans un milieu propice, inerte ou vivant, sont nombreuses. On sait qu'elles ont reçu le nom d'*antiseptiques*. Il est impossible de les étudier ici avec détails à cause de leur multiplicité et de la variabilité de leur action. Une classification méthodique n'en peut être donnée actuellement ; à côté de produits gazeux, d'acides, de sels minéraux, nous trouvons des alcools, des huiles essentielles, des phénols, des composés organiques plus complexes encore. Deux considérations doivent surtout guider dans le choix d'un antiseptique, sa puissance d'abord et ensuite sa facilité d'emploi, son côté pratique. Deux corps, on le sait, se recommandent en première ligne par leurs qualités, le bichlorure de mercure et l'acide phénique.

Le *sublimé corrosif* s'emploie couramment à la dose de 1 p. 1 000 ; c'est la solution connue sous le nom de *liqueur de Van Swieten*. On peut avoir avantage à se servir de solutions plus concentrées, de 5 à 10 p. 1 000. D'après les expériences de Davaine (5), 1 pour 150 000 de sublimé détruit toute virulence du sang charbonneux ; une solution de 1 p. 5 000 tue toutes les spores en quelques heures ; celle à 1 p. 1000 en quelques minutes.

L'acide phénique en solution de 3 à 5 p. 100 a également une action très sûre. Il tue très rapidement les Bactéries qui ne renferment pas de spores et un peu moins vite celles qui ont sporulé.

Pour avoir une idée de la valeur antiseptique des substances ordinairement employées, le tableau suivant dressé par Miquel (6) sera précieux à consulter :

(1) Trillat, Études expérimentales sur le formol (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1er août 1892).

(2) Aronsohn, Ueber die antiseptischen Eigenschaften des Formaldehyde (*Berl. klin. Wochenschr.*, 1892, n° 30, p. 749).

(3) Miquel, De la désinfection des poussières sèches des appartements. — Et : Contribution nouvelle à l'étude de la désinfection par les vapeurs d'aldéhyde formique (*Ann. de micr.*, VI, 1894).

(4) Pottevin, Recherches sur le pouvoir antiseptique de l'aldéhyde formique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 796).

(5) Davaine, Recherches relatives à l'action des substances antiseptiques sur le virus de la septicémie (*Gaz. méd.*, 1874). — Réimprimé dans l'Œuvre de Davaine, Paris, 1889).

(6) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère. Thèse de Paris, 1882.

Tableau indiquant la plus petite quantité de substance antiseptique nécessaire pour empêcher la putréfaction d'un litre de bouillon de bœuf neutralisé, puis exposé à l'air.

1° Substances éminemment antiseptiques.

	grammes.		grammes.
Biiodure de mercure	0,025	Bichlorure de mercure	0,07
Iodure d'argent	0,030	Nitrate d'argent	0,08
Eau oxygénée	0,05		

2° Substances très fortement antiseptiques.

	grammes.		grammes.
Acide osmique	0,15	Iodure de cadmium	0,50
Acide chromique	0,20	Brome	0,60
Chlore	0,25	Iodoforme	0,70
Iode	0,25	Chlorure de cuivre	0,70
Chlorure d'or	0,25	Chloroforme	0,70
Bichlorure de platine	0,30	Sulfate de cuivre	0,90
Acide cyanhydrique	0,40		

3° Substances fortement antiseptiques.

	grammes.		grammes.
Acide salicylique	1,00	Acide chlorhydrique.. / — phosphorique..	2 à 3,00
Acide benzoïque	1,10	Essence d'amandes amères	3,00
Cyanure de potassium	1,20	Acide phénique	3,20
Bichromate de potasse	1,20	Permanganate de potasse	3,50
Acide picrique	1,50	Alun	4,50
Gaz ammoniac	1,60	Tannin	4,80
Chlorure de zinc	1,90	Acide oxalique... / — tartrique.. / — citrique...	3 à 5,00
Acide thymique	2,00	Sulfhydrate alcalin	5,00
Sulfate de nickel	2,50		
Nitrobenzine	2,60		
Acide sulfurique..... / — azotique......	2 à 3,00		

4° Substances modérément antiseptiques.

	grammes.		grammes.
Bromhydrate de quinine	5,50	Chloral	9,30
Acide arsénieux	6,00	Salicylate de soude	10,00
Sulfate de strychnine	7,00	Sulfate de protoxyde de fer	11,00
Acide borique	7,50	Soude caustique	18,00

5° Substances faiblement antiseptiques.

	grammes.		grammes.
Éther sulfurique	22,00	Chlorhydrate de morphine	75,00
Chlorure de calcium	40,00	Alcool éthylique	95,00
Borax	70,00	Chlorure de baryum	95,00

6° Substances très faiblement antiseptiques.

	grammes.		grammes.
Chlorhydrate d'ammoniaque	115,00	Bromure de potassium	240,00
Iodure de potassium	140,00	Sulfate d'ammoniaque	250,00
Chlorure de sodium	165,00	Hyposulfite de soude	275,00
Glycérine	225,00		

Ces déterminations indiquent la *puissance antiseptique* des substances employées; il en faut distinguer la *puissance bactéricide* qui se mesure par le contact nécessaire pour *tuer* les germes microbiens. Les deux propriétés sont loin d'aller toujours de pair, comme le démontre l'expérience.

Pour apprécier l'action d'un antiseptique, on peut user de différents moyens. On peut faire agir l'antiseptique directement sur un microbe bien vivant et actif et noter le temps que celui-ci met à dépérir, s'atténuer et mourir tout à fait. Des parcelles de cultures en nature, ou des fils de soie imprégnés de culture puis séchés, servent à instituer l'expérience. Ou bien, on peut simplement chercher à déterminer quelle est la proportion minime de l'antiseptique nécessaire pour empêcher le développement du microbe dans un milieu favorable.

L'action des antiseptiques varie, du reste, dans de larges limites suivant les espèces et même, parfois, pour une même espèce, suivant ses conditions de vie. C'est la raison pour laquelle il y a un tel désaccord dans les expériences faites jusqu'alors. Toutes les particularités intéressantes seront citées lors de la description des espèces. Il est impossible d'entrer ici dans de plus longs détails sur cette importante question.

2° Agents physiques.

Chaleur. — Il existe, pour les Bactéries, une limite inférieure de température, au-dessous de laquelle toute multiplication végétative s'arrête; c'est le minimum de température pour la vie de l'espèce. Passé cette limite, la vie cesse de se manifester, la mort peut survenir.

Les Bactéries semblent pouvoir supporter sans périr un *froid* très intense. Von Frisch (1) a pu abaisser la température d'un liquide, où plusieurs espèces pullulaient et avaient formé des spores, jusqu'à — 110° sans les tuer, en prenant la précaution de ne revenir que peu à peu à la température ordinaire. Pasteur (2) avait annoncé depuis longtemps qu'elles résistaient à un froid de — 30°. Le degré de résistance semble varier suivant l'espèce. En effet, tandis que Gibier (3) a maintenu des cultures de *Bacillus anthracis* et de *Bacillus septicus* à — 45° pendant cinq heures sans leur faire perdre leur virulence, il a remarqué que le *Micrococcus du choléra des poules* ne résistait jamais à une température de — 35°; le virus rabique, qui renferme probablement des microbes pathogènes, s'atténue vers — 40°. Des expériences de Pictet et Yung (4) fournissent des résultats plus précis. A l'aide de procédés spéciaux, ils ont soumis des espèces bien déterminées à des températures très basses, maintenues pendant un temps assez long. Après avoir fait agir un froid de — 70° pendant cent huit heures et un de — 130° pendant vingt heures, ils ont observé les résultats suivants. Une culture de *Bacillus anthracis*, ne renfermant que des spores, garde toute sa

(1) Von Frisch, Ueber den Einfluss niederer Temperaturen auf die Lebensfähigkeit der Bacterien (*Sitzungsber. der Wiener Acad. der Wissensch.*, mai 1877).
(2) Pasteur, Expériences relatives à la génération spontanée, 1861.
(3) Gibier, cité *in* Duclaux, Chimie biologique, p. 822.
(4) Pictet et Yung, De l'action du froid sur les microbes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCVIII, 1884, p. 747).

virulence ; par contre, du sang charbonneux devient tout à fait inoffensif. Le *Bacillus Chauvæi*, du *charbon symptomatique*, conserve tout son pouvoir pathogène. Des cultures de *Bacillus subtilis* et de *Bacillus ulna* ne perdent rien de leur vitalité. Dans des colonies de *Micrococcus luteus* et d'un *Micrococcus blanc*, la plupart des éléments sont morts, un certain nombre toutefois ont résisté. De la lymphe vaccinale prise sur un veau et soumise aux mêmes actions a donné quand même, après inoculation, des pustules caractéristiques. Du reste, des graines, des œufs d'Invertébrés, soumis au même traitement, conservent également toute leur vitalité. Des recherches plus récentes de Pictet (1) montrent que des cultures de Bactéries, dont beaucoup avaient des spores, ont résisté à un froid de — 200°, obtenu avec l'air liquéfié ; à ce degré de froid, la virulence des cultures serait cependant toujours détruite. Il serait nécessaire, dans de semblables expériences, d'agir sur des espèces bien déterminées et aussi de faire une distinction entre la résistance de la spore et celle de la simple cellule végétative. Les observations sont encore trop peu nombreuses pour qu'on en puisse tirer des conclusions; il se pourrait, cependant, que le degré de résistance d'une espèce pour ces températures extrêmes, soit en raison directe de la résistance de sa spore.

D'Arsonval et Charrin (2), expérimentant sur le *Bacille pyocyanique*, ont remarqué que ce microbe résistait bien à des froids de — 40°, — 60°, — 95°, obtenus avec le cryogène Cailletet, mais se montrait alors modifié dans sa forme et certains caractères de culture. Ils ont obtenu les mêmes résultats, avec des températures plus basses, vers — 270°, en opérant avec l'air liquide.

La plupart des espèces résistent très bien aux froids modérés. Ici les expériences sont plus précises; il est d'un haut intérêt pour l'hygiéniste, en effet, de savoir en quoi il peut compter sur les circonstances naturelles, pour combattre l'apparition de certaines espèces dangereuses pour l'homme. Or, il a été prouvé, dans ces derniers temps, que des températures peu inférieures à 0° n'avaient que très peu d'effet sur les Bactéries; l'analyse bactériologique d'échantillons de glace y a révélé la présence d'un grand nombre de Bactéries, lorsque la glace provenait d'eaux impures. La glace peut donc transmettre des germes pathogènes, tout comme l'eau dont elle provient. Certaines espèces semblent disparaître peu à peu, d'autres supporter la congélation pendant un temps très long. Mittchell (3) a remarqué que le *Micrococcus pyogenes aureus* et le *Bacillus typhosus* résistaient parfaitement à cent trois jours de congélation. Par contre, le *Micrococcus prodigiosus* et le *Proteus vulgaris* disparaîtraient après cinq jours de congélation. La conclusion à tirer de ces observations et des recherches de Fraenkel (4) et de Prudden (5) est qu'une congélation, même prolongée, ne tue pas la plupart

(1) Pictet, Des basses températures en biologie (*Arch. des sc. phys. et nat. de Genève*, 1893).

(2) D'Arsonval et Charrin, Influence des agents cosmiques sur l'évolution de la cellule bactérienne (*Arch. de phys.*, 1894, p. 335). — Et : Action de l'air liquide sur les êtres monocellulaires ou leurs sécrétions (*Soc. de biol.*, 9 juill. 1898).

(3) Mittchell, *The med. Records*, 1887.

(4) Fraenkel, Ueber der Bacteriengehalt der Eises (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 2e p., p. 302).

(5) Prudden, Sur les Bactéries de la glace (*New York med. Records*, 1887), analysé dans *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, I, p. 400.

des Bactéries, mais ne fait qu'enrayer leur développement, qui reprend aussitôt que le froid a disparu; un froid prolongé peut cependant en diminuer considérablement le nombre.

Klepzoff (1), expérimentant sur le *Bacille du charbon*, dit avoir observé une diminution très nette de virulence à la suite d'exposition assez prolongée à des froids d'intensité moyenne, de — 20° à — 25° par exemple. Après sept jours d'exposition au froid, un virus très actif, occasionnant la mort du lapin en trois jours et demi, ne tue déjà plus le lapin qu'en cent quatre heures; en cent vingt heures après douze jours; après vingt-quatre jours, le lapin résiste à l'inoculation. Le virus employé ne contenait très probablement pas de spores.

La température la plus basse à laquelle les Bactéries peuvent commencer à végéter, leur *minimum* de température, paraît être très variable suivant l'espèce que l'on considère. D'après Forster (2), certaines Bactéries de l'eau pourraient déjà végéter à 0°. Fischer (3) l'a reconnu aussi pour une Bactérie phosphorescente trouvée sur des poissons morts dans la mer du Nord.

C'est en général, toutefois, à des températures un peu supérieures que se place le début de la végétation de la plupart des espèces. La grande majorité des Bactéries saprophytes de l'air ou des eaux ne commencent à croître que de 5° à 10°. D'après Seitz (4), le développement du *Bacille typhique* est déjà sensible à 4 degrés.

D'autres espèces ont leur minimum de température de croissance reporté beaucoup plus haut. Ce sont d'abord des espèces pathogènes qui s'attaquent aux organismes présentant une température constante élevée; ainsi, le *Pneumocoque* ne se développe guère dans les milieux artificiels que de 20° à 23°, le *Bacille de la tuberculose* ne commence à s'y cultiver qu'à partir de 28°. Le *Bacillus thermophilus*, très intéressante espèce que Miquel a isolé de l'eau, ne se développe, dans les bouillons et la gélose, qu'au-dessus de 40°; c'est là, il faut le dire, un fait exceptionnel.

A partir du minimum de température, si l'on va en remontant vers les degrés élevés, l'espèce continue à vivre jusqu'à une température supérieure où toute multiplication cesse. C'est le *maximum* de température de l'espèce; au-dessus, toute manifestation vitale disparaît, la mort arrive.

Cette limite supérieure paraît en général moins variable que le minimum. Elle se tient d'ordinaire aux environs du degré de chaleur qui paralyse et tue d'ordinaire le protoplasme vivant, vers 42°. C'est à cette température que s'arrête la végétation de nombreuses espèces saprophytes et d'un certain nombre d'espèces pathogènes, le *Pneumocoque* et le *Bacille de la tuberculose* par exemple. D'autres ont leur maximum plus bas; le *Bacillus rosaceus metalloides*, très belle espèce à pigment rouge-carmin, ne croît plus au-dessus de 35°; le *Bacille phosphorescent* de Fischer, cité plus haut comme végétant déjà à 0°,

(1) Klepzoff, Zur Frage über den Einfluss niederer Temperaturen auf die vegetativen Formen der Bacillus anthracis (*Centralbl. für Bakt.*, XVII, 1895, p. 289).

(2) Forster, Ueber die Entwickelung von Bakterien bei niederen Temperaturen (*Centralbl. für Bakt.*, 1892, XII, p. 431).

(3) Fischer, Bakteriologische Untersuchungen (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 1086, II, 1887).

(4) Seitz, Bacteriologische Studien zur Typhusaetiologie. Leipzig, 1836.

périt rapidement à 37°. Quelques-unes l'ont plus haut; le *Bacille du charbon* ne cesse de végéter qu'à 45°; le *Bacille typhique* et le *Bacille du côlon* n'arrêtent leur multiplication qu'à 46°. Le *Bacillus thermophilus* croît encore bien à 70° et ne périt qu'à 72 degrés.

Entre ces deux stades, il est un point où la vie se manifeste avec la plus grande énergie, où la multiplication donne tout ce qu'elle peut donner, et où les fonctions particulières aux espèces s'accomplissent avec la plus grande intensité; c'est l'*optimum* de température de l'espèce.

Cet optimum est, cela se comprend, en relation directe avec le minimum et le maximum, plus cependant avec le second dont il se rapproche toujours beaucoup. Il peut varier dans d'assez larges limites suivant l'espèce à laquelle on s'adresse. Le *Bacille phosphorescent* de Fischer a son optimum entre 5° et 10°, le *Bacillus rosaceus metalloides* à 15°; chez le *Bacille typhique*, il se trouve entre 25° et 30°; chez le *Pneumocoque* à 35°; chez le *Bacille de la tuberculose* à 38°; chez le *Bacillus thermophilus*, il est placé entre 65° et 70°. D'après Brefeld (1), le développement du *Bacillus subtilis* se fait de 6° à 50°, avec un optimum vers 30°. Le *Bacillus anthracis* commence à se multiplier par division à 15°, il le fait jusqu'à 43° et présente un optimum de croissance de 20° à 25°. Il est, en général, assez difficile de fixer d'une manière précise ce point optimum ; on ne peut, en effet, se baser, pour le faire, que sur l'intensité apparente de la croissance dans les cultures, épaisseur de la culture, trouble plus ou moins prononcé dans les bouillons, caractères qui peuvent largement dépendre de la vitalité de la race que l'on observe.

On voit, en somme, qu'entre les limites extrêmes, il est des températures favorables pour la végétation du microbe, des températures *eugénésiques*; d'autres, au contraire, défavorables, où il continue à végéter, mais mal, péniblement, des températures *dysgénésiques*.

Ces rapports de températures varient dans de larges limites suivant les espèces; ils doivent aussi varier, quoique dans des limites plus restreintes, suivant le milieu pour une même espèce. C'est ce qui semble résulter de l'intéressante remarque de Koch, que le *Bacille de la tuberculose* a, chez les animaux à sang chaud, un minimum et un optimum de température plus élevés que dans les cultures.

En général, une température de 60° environ suffit pour tuer les cellules végétatives. Pasteur a montré qu'en chauffant le vin vers 50° à 60°, on tue tous les germes des fermentations acétique, muqueuse et amère; c'est un excellent moyen pour conserver les vins sujets à ces altérations et le principe de la *pasteurisation*. Cette limite peut cependant être dépassée; certaines espèces semblent pouvoir prospérer à une température supérieure. Van Tieghem (2) a décrit deux espèces qu'il est possible de cultiver à 74°, en prenant la précaution de les faire vivre dans un milieu parfaitement neutre ou légèrement alcalin, la moindre trace d'acide arrêtant le développement. L'une est un *Micrococcus* en longs chapelets, l'autre un *Bacille* dont le maximum de végétation est à 77°; les caractères donnés ne suffisent malheureusement pas pour les reconnaître.

(1) BREFELD, Untersuchungen über die Spaltpilze, *Bacillus subtilis*, 1878.

(2) VAN TIEGHEM, Sur les Bactériacées vivant à la température de 74° centigrades (*Bull. de la Soc. Bot.*, t. XXVIII, 1881, p. 35).

Le *Bacillus thermophilus* de Miquel (1) présente la curieuse propriété de supporter sans périr, à l'état de cellules végétatives, une température de 71° et de se développer abondamment encore à 70° et un peu au-dessus, à un degré de chaleur où les éléments vivants périssent d'ordinaire. Globig (2) a, de son côté, décrit une Bactérie, *Bacillus mesentericus ruber*, pouvant croître aussi entre 50 et 70 degrés. Rabinowitch (3) et d'autres ont, depuis, signalé un assez grand nombre de ces *Bactéries thermophiles* (Voy., à la description, *Bacilles thermophiles*).

La présence de plusieurs espèces de Bactéries dans l'eau des sources thermales à leurs points d'émergence profonde, aux griffons, où la température atteint et dépasse même les degrés cités, doit faire reculer encore plus loin la limite de la vie végétative chez ces êtres.

Mais si un tel degré de chaleur tue les cellules végétatives, il n'en est pas de même des spores, qui résistent à une température bien plus élevée.

Brefeld (4) a pu faire germer des spores de *Bacillus subtilis* qui avaient été portées à 100° pendant une heure; elles n'étaient toutes mortes qu'après trois heures d'ébullition. A 105°, il faut quinze minutes pour les tuer, dix à 107° et cinq à 110 degrés.

D'après Roux (5), les spores du *Bacille du charbon* supportent, pendant dix minutes, une température de 95°, dans un milieu humide; à 100°, elles meurent en moins de cinq minutes. On peut les chauffer longtemps à 80° sans les faire périr. Les spores résistent plus encore à une chaleur sèche. Koch (6) a observé la germination de spores de *Bacillus subtilis* et de *Bacillus anthracis* portées à 123° dans l'air sec. D'après Arloing, Cornevin et Thomas (7), les spores du *Bacille du charbon symptomatique*, prises dans le sang, ne résistent pas plus de deux minutes dans l'eau bouillante ; desséchées préalablement à 33°, il faut une ébullition de deux heures pour les détruire. Miquel (8) a pu porter des germes à 110°, 120°, 130°, et même 145°, dans l'air sec : certains ont encore rajeuni ; à 150°, il a toujours obtenu une stérilisation absolue ; dans les mêmes conditions, Cambier (9) dit n'avoir pas obtenu la stérilisation de terre de jardin, desséchée à l'avance, après un chauffage de trente-cinq minutes à 180°.

La résistance à la chaleur sèche ou humide paraît beaucoup dépendre des conditions dans lesquelles se trouvent les germes au moment où ils sont exposés à l'action de la température.

Des expériences très complètes à ce point de vue ont été faites par Duclaux (10) sur les Bactéries occasionnant la fermentation de diverses matières albuminoïdes, en particulier de la caséine du lait, qu'il range sous la rubrique générique de *Tyrothrix*.

(1) Miquel, *Annuaire de Montsouris*, 1881, p. 464, et Monographie d'un bacille vivant au delà de 70° centigrades (*Ann. de micr.*, I, 1888).

(2) Globig, Ueber Bacterien-Wachsthum bis 50°-70° (*Zeitschr. für Hygiene*, III, 1888).

(3) Lydia Rabinowitch, Ueber die thermophilen Bakterien (*Zeitschr. für Hiegene*, 1895, XX, p. 154).

(4) Brefeld, *loc. cit.*

(5) Roux, De l'action de la chaleur et de l'air sur les spores de la Bactéridie du charbon (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, I, p. 392).

(6) Koch, Untersuchungen über Bacterien (*Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, I).

(7) Arloing, Cornevin et Thomas, *C. R. de l'Acad. des sc.*, XCIV, 1882, p. 189.

(8) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère. Thèse de Paris, 1882.

(9) Cambier, Résistances des germes bactériens à la chaleur sèche (*Ann. de micr.*, 1896).

(10) Duclaux, Le lait, Paris, J.-B. Baillière, 1887, et Chimie biologique, p. 649 et suiv.

Les cellules très jeunes du *Tyrothrix tenuis* ne périraient qu'entre 90° et 95° dans un liquide neutre, et seulement au-dessus de 100° dans un liquide légèrement alcalin. Les spores sont encore vivantes, après avoir été portées à 115° dans un liquide alcalin. Le développement est plus rapide de 25 à 35 degrés.

Le *Tyrothrix filiformis* meurt à 100° dans un liquide légèrement acide, et seulement au-dessus dans le lait. Les spores périssent à 110° quand elles proviennent de cultures sur gélatine et seulement à 120° quand elles viennent du lait.

Le *Tyrothrix turgidus*, à l'état de bâtonnet, périt à 80° ; ses spores ne sont tuées qu'à 115 degrés.

La réaction du milieu influe considérablement, on le voit, sur le degré de résistance à la chaleur ; l'acuité nuit ici à la conservation de la vitalité, comme elle nuit, en d'autres circonstances, à la germination des spores, à la multiplication végétative et à l'accomplissement de la fonction de ferment.

Miquel et Lattraye (1) ont, plus récemment, démontré, en des expériences très précises, que les spores du *Bacillus subtilis* et d'autres espèces à caractères voisins peuvent résister très longtemps à une température humide de 100° qui ne les tue souvent qu'après cinq heures d'action. Pour ces derniers expérimentateurs, une légère alcalinité des milieux diminuerait la résistance des germes, les milieux neutres lui étant plus favorables. Les résultats obtenus par Wroblewsky (2), avec le *Bacillus mesentericus vulgatus*, ne font que confirmer les précédents.

Les différences des conditions dans lesquelles se sont faites les expériences établies sur ce point, font que les résultats énoncés ne sont pas toujours concordants ; une même espèce, en effet, peut, suivant son état biologique, résister plus ou moins aux causes de destruction et particulièrement à la chaleur. Le tableau suivant, emprunté à Freeman (3), peut être instructif à ce point de vue ; il indique pour quelques espèces le degré de température mortel après un temps déterminé d'exposition :

Spirille du choléra........	60°	après	10	minutes	(Kitasato).
— —	59°	—	1	minute	(Van Geuns).
— —	54°	—	5	minutes	(Van Geuns).
— —	52°	—	4	—	(Sternberg).
Streptocoque pyogène.....	52°	—	10	—	(Sternberg).
Bacille typhique...........	60°	—	5	—	(Büchner).
— —	60°	—	1	minute	(Van Geuns).
— —	57°	—	5	minutes	(Janowski).
— —	56°	—	10	—	(Sternberg).
— —	56°	—	5	—	(Van Geuns).
Bacille de la diphtérie.....	58°	—	10	—	(Welch et Abbott).
Staphylocoque pyogène doré....................	56°-58°	—	10	—	(Sternberg).
Colibacille.................	60°	—	10	—	(Weisser).
Pneumocoque.............	56°	—	10	—	(Sternberg).

(1) Miquel et Lattraye, De la résistance des spores des Bactéries aux températures humides égales et supérieures à 100° (*Ann. de micr.*, 1875, VII).

(2) Wroblewsky, Verhalten des Bacillus mesentericus vulgatus bei höheren Temperaturen (*Centralbl. für Bakt.*, 2° Abth., I, p. 417).

(3) Freeman-Lowe, Temperature Pasteurisation of milk at about 68° C. (155 F.) (*Studies from the Depart. of Path., Columbia Univ.*, vol. V, part. I, 1896-1897).

Bacille de la tuberculose..	70°	après 1 minute	(Grancher et Ledoux-Lebard).
— — — ..	70°	— 10 minutes	(Yersin).
— — — ..	68°-68°,5	— 20 —	(Ritter).
— — — ..	65°	— 15 —	(Forster).
— — — ..	60°	— 20 —	(Bonhoff).
— — — ..	60°	— 15 —	(Schraeder).

On doit tenir pour moins précis ce second tableau établi par Steinberg (1) :

Spirillum choleræ	52°	
Spirillum tyrogenum	52°	
Spirillum Finckleri	50°	
Bacillus typhosus	56°	
Bacille du Rouget	58°	
Bacillus murisepticus	58°	
Bacillus Neopolitanus	62°	
Bacillus cavicida	62°	
Bacillus Friedlanderi	56°	
Bacillus crassus sputigenus	54°	
Bacillus pyocyaneus	56°	
Bacillus indicus	58°	
Bacillus prodigiosus	58°	
Bacillus cyanogenus	54°	
Bacillus fluorescens	54°	
Bacillus acidi lactici	56°	
Staphylococcus pyogenes aureus	58°	
Staphylococcus pyogenes citreus	62°	
Staphylococcus pyogenes albus	62°	
Streptococcus pyogenes	54°	
Micrococcus tetragenus	58°	
Micrococcus Pasteuri	52°	
Sarcina lutea	64°	
Sarcina aurantiaca	62°	
Bacillus anthracis	54°	(Chauveau).
Bacillus mallei	55°	(Loeffler).
Bacillus diphteriæ	60°	(Loeffler).
Bacillus choleræ gallinarum	56°	(Salmon).

La différence de résistance des espèces a souvent été mise à profit pour isoler certaines d'entre elles, d'autres avec lesquelles elles sont mélangées. Le moyen classique d'obtenir le *Bacillus subtilis* est de faire bouillir pendant trois quarts d'heure une infusion de foin. Parmi les germes qui se trouvent dans le liquide, ceux de ce Bacille survivent d'habitude seuls ; c'est pour ce motif qu'on le nomme souvent *Bacille du foin* (Heubacillus). Miquel (2) a obtenu le *Bacillus ureæ*, exempt de *Micrococcus ureæ* et d'autres Bactéries de l'eau d'égout, en ensemençant une goutte de cette eau, portée pendant deux heures entre 80° et 90°, dans l'urine stérilisée. La méthode est de Pasteur (3) qui l'a établie pour isoler le *Vibrion septique* d'autres espèces l'accompagnant dans la terre végétale. Il lévige la terre avec de l'eau distillée et laisse au repos le liquide qui tient en suspension les éléments très ténus. Le dépôt, recueilli et très légèrement acidulé, est chauffé pendant quelques minutes à 90°, puis injecté sous la peau d'un animal. S'il existe du *Bacillus septicus* dans la terre employée, l'animal meurt en présentant des

(1) Steinberg, Textbook of Bacteriology, p. 151.

(2) Miquel, Nouvelles recherches sur le Bacillus ferment de l'urée (*Bull. de la Soc. chim.*, XXXII, 1879, p. 126).

(3) Pasteur, Sur le vibrion septique. (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1877).

symptômes tout spéciaux ; les muscles sont le siège d'une forte inflammation ; le tissu conjonctif est œdémateux, il s'y forme çà et là des amas de liquide rougeâtre qui, examiné rapidement au microscope, se montre rempli de bâtonnets mobiles, anaérobies. Cette Bactérie, cultivée avec les précautions voulues, reproduit, par inoculation, les mêmes symptômes caractéristiques de la *septicémie de Pasteur*, *œdème malin* des Allemands.

Les actes physiologiques accomplis par les espèces se ressentent, d'une manière très nette, des variations de la température. Il en est des fermentations comme de la vitalité des individus qui les produisent ; il y a entre ces deux termes une corrélation intime et un rapport direct. L'un diminuant, l'autre doit infailliblement baisser à son tour, et inversement.

L'activité de la fermentation lactique, produite par le *Bacillus lacticus*, croît, depuis une température assez basse, jusqu'à 44°. De 44° à 53°, elle reste presque constante, puis décroît (1).

D'après Fitz (2), la température la plus favorable à la fermentation butylique du *Bacillus butylicus*, est de 40°. La fermentation cesse à 45°, la Bactérie n'est cependant pas tuée : elle ne meurt que vers 50°. Les spores meurent à 90°, en peu de temps.

Schlœsing et Müntz (3) ont constaté que la nitrification est nulle ou très faible à 5° ; elle s'établit bien nettement à 12° et croît jusqu'à 37° où elle présente son maximum. A partir de cette température, elle diminue. A 50°, on n'obtient plus que de très faibles quantités de nitrates et plus du tout à 55°. Une température de 100° tue le ferment en dix minutes.

Entre le degré de chaleur le plus favorable à la vie d'une espèce et celui qui l'abolit complètement, il existe un intervalle dans lequel les propriétés vitales de l'espèce, et en particulier la virulence des espèces pathogènes, diminuent de plus en plus, au fur et à mesure que la température se rapproche du degré mortel. La virulence, qui est à son maximum dans une culture, *s'atténue* graduellement lorsque la température s'élève, et peut finir par disparaître complètement, si l'on atteint un degré trop élevé. Les accidents déterminés par inoculation varient dans la même proportion ; violents au début, ils deviendront de plus en plus faibles et, à un moment donné, feront tout à fait défaut. A cet instant, cependant, la Bactérie n'est pas encore tuée ; semée dans un milieu nutritif, elle s'y reproduit.

Toussaint (4) a le premier attiré l'attention sur cette action atténuatrice de la chaleur, en montrant que du sang charbonneux, chauffé pendant cinq minutes vers 55°, ne donnait plus qu'une très faible atteinte de *sang de rate* aux moutons auxquels on l'inoculait. Chauveau (5) a repris la question et l'a soumise à des recherches méthodiques. D'après

(1) Richet, De quelques conditions de la fermentation lactique (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXVIII, 1879, p. 750).

(2) Fitz, Ueber Spaltpilzgahrungen (*Ber. der deut. chem. Ges.*, IX, X, XI, XIII et XV).

(3) Schlœsing et Muntz, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1870, LXXXIX, p. 91 et 1, 74).

(4) Toussaint, De l'immunité pour le charbon (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCI, 1880, p. 185 et 303).

(5) Chauveau, De l'atténuation des cultures virulentes par la chaleur (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCVI, 1883, p. 553, et XCIV. 1882, p. 1694).

ce dernier expérimentateur, le *Bacillus anthracis*, chauffé très peu de temps à 55°, perd toute virulence ; seize minutes de chauffage à 52° donnent le même résultat. Quatorze minutes ne suffisent pas pour enlever toute action, mais la virulence est très amoindrie. Elle l'est de moins en moins, si on réduit le temps de chauffage à douze, dix, huit, six minutes. Cette diminution ne s'aperçoit pas seulement dans les inoculations aux animaux, mais aussi dans les cultures. Sur un même milieu nutritif, le développement se fait en raison inverse du temps de chauffage. Ce qui prouve bien que la virulence est en rapport tout à fait intime avec la vitalité.

On verra quel grand parti on peut tirer de ces expériences et l'application que l'on fait des cultures atténuées pour les vaccinations.

Dessiccation. — L'eau est indispensable à la vie des Bactéries comme à celle de tous les êtres. Une dessiccation absolue les tue infailliblement dans un temps qui varie sans doute suivant la difficulté qu'éprouve le protoplasma à perdre toute son eau. La plupart des espèces supportent parfaitement une dessiccation relative, surtout à l'état de spores. On ne peut encore rien formuler de général. Ainsi, tandis que le *Bacterium termo* meurt après sept jours de dessiccation, on peut dessécher des cultures de *Micrococcus prodigiosus* sous une cloche à acide sulfurique, et les garder longtemps dans cet état, propres à fournir de nouvelles colonies après ensemencement.

Une dessiccation lente à température assez basse, 33°, semble, en privant la cellule d'un excès d'eau, la faire résister à un chauffage qui la tuerait très vite, si on l'y soumettait d'emblée. Le fait est peut-être dû à la formation abondante de spores pendant la première phase de l'expérience. C'est probablement la présence ou l'absence de spores chez les différentes espèces que l'on a observées à ce point de vue qui explique les différences remarquées.

Lumière. — D'une façon générale, la lumière semble n'exercer que peu d'influence sur le développement des Bactéries. En fait, beaucoup d'entre elles, celles qui se trouvent dans les couches profondes du sol, par exemple, doivent pouvoir s'en passer complètement, sans que pour cela leur vitalité en souffre.

Il est prouvé que certaines espèces sont attirées par les rayons lumineux. Dans un vase contenant de l'eau de macération de plantes, qui fourmille de Bactéries, et que l'on éclaire d'un côté seulement, on reconnaît, par le trouble plus intense, que ces êtres se massent du côté éclairé. En opérant de cette façon, Zopf (1) a vu que le développement du *Beggiatoa roseo-persicina* se faisait bien mieux dans la partie éclairée du liquide nutritif que dans celle qui restait obscure. Les divers rayons du spectre n'ont pas une égale attraction. Si l'on fait tomber, à l'aide de l'objectif microspectral d'Engelmann, un spectre sur une préparation contenant des Bactéries mobiles, on les voit affecter, au bout de quelque temps, une disposition particulière et constante. Elles s'accumulent surtout dans l'ultra-rouge ; on en trouve déjà bien moins dans le jaune ; l'amas est faible dans le vert et diminue de plus en plus dans le bleu et le violet. Il semblerait, d'après cela, que les rayons calorifiques sont bien plus favorables que les rayons chimiques à la vie de ces êtres ; de nou-

(1) Zopf, Die Spaltpilze, 1885.

velles expériences sont nécessaires cependant pour confirmer cette opinion. Des espèces, paraissant complètement immobiles, peuvent se mouvoir sous l'action de la lumière ; c'est ainsi que, d'après Engelmann (1), une Bactérie, qu'il dénomme *Bacterium photometricum*, ne devient mobile que sous l'influence des rayons lumineux d'une certaine intensité.

La lumière ne paraît avoir aucune action sur la production du pigment, chez beaucoup d'espèces chromogènes. La coloration apparaît tout aussi bien à l'obscurité.

Certaines sembleraient au contraire fuir les rayons solaires. Pour Warrington (2), la nitrification ne s'opère qu'à l'obscurité. Downes et Blunt (3) ont montré qu'une forte lumière pouvait être nuisible aux cultures de Bactéries, même mortelle pour beaucoup d'entre elles. Les expériences de Duclaux (4), faites sur des espèces définies, sont bien plus concluantes. Il en résulte que la lumière peut être une cause réelle de mort au bout d'un temps plus ou moins long, beaucoup plus court pour les espèces qui n'ont pas de spores, les *Micrococcus* par exemple, que pour celles qui en produisent. Dans ce dernier cas, la spore résiste plus longtemps que la cellule végétative. La mort est d'autant plus rapide que l'insolation est plus forte. Arloing (5) et Roux (6) ont vu diminuer très vite la vitalité de la *Bactérie du charbon*, sous l'action des rayons lumineux. D'après Roux, les spores de cette espèce sont presque toujours tuées après trente heures d'insolation; la résistance la plus grande a été de cinquante-quatre heures. D'après Arloing, elles seraient moins résistantes que les Bacilles à cette action. Les spores insolées à l'abri de l'air restent vivantes un temps beaucoup plus long.

Des recherches de Pansini (7) n'ont fait que confirmer ces résultats. Il a opéré sur des espèces assez variées, *Micrococcus prodigiosus*, *Bacillus violaceus*, *Bacillus pyocyaneus*, les *Bacilles du charbon*, *du choléra*, *de la septicémie de la souris*, le *Micrococcus pyogenes albus*. Il exposait aux rayons du soleil des cultures sur gélose ou sur pommes de terre fraîchement inoculées ou des cultures en plein développement dont il se servait ensuite pour inoculer des milieux nouveaux, et comparait les résultats avec ceux donnés par des cultures également exposées au soleil, mais protégées par une cloche de verre noirci. Voici les conclusions de son mémoire :

1° Même la lumière diffuse a une action retardante sur le développement des microorganismes ;

2° La lumière directe du soleil a réellement une action stérilisante sur les microorganismes, en outre d'une action retardante sur leur développement ;

(1) Engelmann, Bacterium photometricum (*Unters. aus der phys. Labor.*, Utrecht, 1881).

(2) Warrington, *Journ. chem. Soc.*, London, XXXIII, p. 44.

(3) Downes et Blunt, *Proc. of Roy. Soc.*, 1886, p. 14.

(4) Duclaux, Action de la lumière sur les Microbes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, C et CI, 1885, et *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, p. 88).

(5) Arloing, Influence de la lumière blanche et de ses rayons constituants sur les propriétés du *Bacillus anthracis* (*Arch. de phys.*, 1886, p. 920).

(6) Roux, De l'action de la lumière et de l'air sur les spores de la Bactéridie du charbon (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 445).

(7) Pansini, De l'action de la lumière solaire sur les microorganismes (*Rivista d'Igiene*, 1889). Analyse in : *Ann. de micr.*, 1890, p. 516.

3° L'action stérilisante proprement dite se produit quand les rayons du soleil tombent perpendiculairement ou à peu près sur la surface des cultures;

4° L'action stérilisante et retardante de la lumière exige, pour produire son effet, un temps variable selon les différents microorganismes;

5° Le degré de l'action de la lumière varie suivant le terrain de culture;

6° Les milieux nutritifs qui ont été exposés à la lumière restent propres à la vie des microorganismes;

7° Dans le bouillon, les spores du charbon ne résistent à la lumière qu'à peu près autant et peut-être même un peu moins que les Bacilles;

8° Desséchées, les spores résistent plus longtemps que dans le bouillon;

9° Les spores sont tuées par la lumière en tant que spores et non pas à l'état de Bacilles naissants;

10° La lumière retarde, mais n'empêche pas la sporulation;

11° Chez les espèces chromogènes, la lumière modifie la production du pigment, ordinairement en en diminuant l'intensité, quelquefois en en altérant la nature;

12° Avant de tuer les Bacilles du charbon, la lumière en atténue la virulence; ce charbon atténué n'a pas de qualités vaccinales, les cultures suivantes lui font récupérer sa virulence.

Ces résultats ont été confirmés depuis par d'autres expérimentateurs, Dieudonné (1), Marshall Ward (2) surtout. Il a été nettement démontré que l'action nocive était bien due à l'intensité lumineuse, aux rayons lumineux, les radiations calorifiques n'ont pas ou presque pas à intervenir; il faut cependant reconnaître que Duclaux, Saverio (3) et Kruse (4) ont reconnu qu'une température élevée rendait plus rapides les effets de la lumière solaire.

Les recherches de Kotliar (5), de Dieudonné, de Beck et Schultz (6), prouvent que les divers rayons du spectre ont, à ce point de vue, une action bien différente. Les rayons qui présentent seuls l'action bactéricide sont les rayons bleus, violets et ultra-violets, c'est-à-dire les rayons chimiques; les rayons rouges et jaunes sont à peu près inactifs.

La nature de la source de lumière n'influe en rien sur les résultats.

Le temps nécessaire à la lumière pour arrêter la pullulation et pour causer la mort des différents germes est loin d'être actuellement fixé. La durée nécessaire pour que cette action se produise paraît du reste varier dans de larges limites pour les différentes espèces et même pour une espèce suivant les conditions biologiques où elle se trouve. Aussi,

(1) Dieudonné, Beiträge zur Beurtheilung der Einwirkung des Lichtes auf Bakterien (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, IX, 1894).

(2) Marshall Ward, Influence de la lumière sur les microbes (*Revue scient.*, 1894).

(3) Saverio, L'influenza della temperatura sull' azione microbicida della luce (*Ann. dell' Inst. d'Ig. di Roma*, II, 1890).

(4) Kruse, Ueber die hygienische Bedeutung des Lichtes (*Zeitschr. für Hygiene*, XIX, 1895).

(5) Kotliar, L'influence de la lumière sur les Bactéries (Anal. in *Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 430).

(6) Beck et Schultz, Ueber die Einwirkung sogenannten monochromatischen Liches auf die Bakterienentwicklung (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIII, 1896, p. 490).

les différents chiffres publiés ne doivent-ils avoir qu'une valeur relative. D'après Büchner (1) et Mink, il faudrait une heure d'insolation pour stériliser une eau tenant en suspension du *Bacillus coli communis*. Pansini a vu le soleil tuer le *Bacillus anthracis* en culture dans le bouillon en une heure à deux heures et demie; les spores humides meurent en une demi-heure à deux heures; desséchées, en six ou huit heures seulement. Janowski (2) dit que le *Bacille typhique* résiste environ six heures; d'après Ledoux-Lebard (3), le *Bacille de la diphtérie* exposé sec et en couche mince à la lumière diffuse est tué après vingt quatre heures. D'après Koch et Migneco (4), le *Bacille tuberculeux* commence à perdre de sa virulence en trois heures d'insolation et est souvent tué en cinq ou sept heures. D'Arsonval et Charrin (5), expérimentant sur le *Bacille pyocyanique*, ont observé que l'action atténuatrice de la lumière solaire commençait à se manifester après deux heures d'exposition par un retard plus ou moins prononcé dans l'apparition du pigment qui aboutit à une suppression complète de la fonction chromogène si les effets persistent; ce n'est qu'au bout d'un temps beaucoup plus long que la végétation est atteinte. Vincent (6), expérimentant sur le *Bacille typhique*, a vu que les rayons solaires le tuaient en quatre à dix heures dans l'eau ou sur de la terre humide, suivant les conditions d'action, agissant plus rapidement lorsque le milieu est tout à fait transparent, et plus lentement lorsque le milieu est trouble.

Les produits sécrétés par les Bactéries paraissent aussi sensibles à l'action de la lumière. Les toxines s'atténuent assez vite sous l'influence de fortes radiations, mais surtout en présence d'oxygène (7); Green (8) l'a aussi remarqué pour les diastases.

Ces diverses expériences démontrent que l'action de la lumière sur la vitalité des Bactéries est réelle, et qu'elle est intimement liée à l'action de l'oxygène. Il se produirait une très forte oxydation, nuisible à la vie. Duclaux (9) a montré, en effet, que l'oxydation des matières organiques se faisait très activement à la lumière. Conclusion importante à tirer pour l'hygiéniste: l'air et le soleil sont des barrières excellentes à opposer au développement de ces êtres.

Les *rayons Röntgen* ne paraissent pas avoir d'influence sensible sur le développement et la vitalité des Bactéries (10).

(1) Buchner, Ueber den Einsfluss des Lichtes auf Bakterien (*Centralbl. für Bakt.*, XII, 1893).

(2) Janowski, Zur Biologie der Typhusbacillen (*Centralbl. für Bakt.*, VIII, 1890).

(3) Ledoux-Lebard, Action de la lumière sur le Bacille diphtérique (*Arch. de méd. expér.*, 1893).

(4) Migneco, Azione della luce solare sulla virulenza dello Bacillo tuberculare (*Annali d'Igiene sperimentale*, V, 1895).

(5) D'Arsonval et Charrin, Influence des agents cosmiques sur l'évolution de la cellule bactérienne (*Arch. de phys.*, 1894, p. 335).

(6) Vincent, Influence de la lumière solaire sur le Bacille de la fièvre typhoïde (*Revue d'hyg.*, XX, 1898, p. 230).

(7) Piazza, Influenza della luce solare sulla tossina difterica (*Annali d'Igiene sperimentale*, 1895, p. 521).

(8) Green, The influence of light on diastase (*Ann. of Bot.*, VIII, 1894, p. 370).

(9) Duclaux, *Ann. de l'Inst. agr.*, 1886.

(10) Mink, Zur Frage über die Einwirkung der Röntgen'schen Strahlen auf Bakterien (*Münch. med. Wochenschr.*, 1896, nos 5 et 9). — Wittlin, Les rayons Röntgen exercent-ils une action quelconque sur les Bactéries (*Ann. de micr.*, VIII, 1896, p. 514). — Pott, Concerning the action of X rays on cultivation of tubercle Bacillus (*The Lancet*,

Pression. — P. Bert (1) a montré que l'oxygène comprimé tuait les Bactéries en un temps assez court. Les fermentations et les putréfactions s'arrêtent vite en présence de ce gaz comprimé à 8 ou 10 atmosphères. L'air comprimé est bien moins actif. Certes (2) a pu faire subir à des liquides putréfiés une pression de 450 à 500 atmosphères sans arrêter la putréfaction, et, d'après lui, des cultures de *Bacillus anthracis* gardent leur virulence, après avoir été exposées pendant vingt-quatre heures à 600 atmosphères. Le principal facteur, dans les expériences de P. Bert, paraît donc être l'oxygène, dont l'action comburante serait exaltée par la pression.

Les expériences de Chauveau (3), sur l'action de l'oxygène comprimé sur le *Bacillus anthracis*, ont donné des résultats différents de celles faites par Certes sur la même espèce avec l'air. La mort arrive au bout d'un temps variable, suivant la force de la pression, mais elle ne survient que graduellement ; la vitalité diminue peu à peu, et, parallèlement avec elle, la virulence. D'où formation, sous cette influence, de virus atténués dont l'expérimentateur peut graduer la force, en variant la pression à laquelle il les soumet.

Les choses se passent-elles en l'absence d'air ou en la présence de très faibles quantités d'oxygène, juste nécessaires au maintien de la vie, comme dans l'air ou l'oxygène pur? Des expériences manquent complètement sur ce point.

D'Arsonval et Charrin (4), en soumettant le *Bacille pyocyanique* à une pression de 50 atmosphères sous l'acide carbonique, ont observé une diminution graduelle de la vitalité et du pouvoir chromogène, de telle sorte qu'après six heures d'exposition à un tel traitement le microbe avait perdu tout pouvoir de produire de la matière colorante et presque toute puissance de pullulation. Ici, cependant, il y a peut-être lieu de faire intervenir l'action de l'acide carbonique avec celle propre à la pression. C'est probablement aussi la raison des résultats positifs obtenus par Malfitano (5) faisant agir l'acide carbonique et l'oxyde de carbone à des pressions de 55 à 60 atmosphères.

Roger (6), de son côté, a pu faire agir, sans grand résultat, des pressions énormes, de 967 à 2 909 atmosphères, sur divers microbes, le *Staphylocoque doré*, le *Streptocoque de l'érysipèle*, le *Colibacille*, le *Bacille du charbon*. Le *Staphylocoque doré* et le *Colibacille* ne lui ont

1897, II, nº 21). — Blaise et Sambuc, De l'action des rayons X sur le *Pyocyaneus* et la Bactéridie charbonneuse (*Soc. de Biol.*, 10 juillet 1897). — Beauregard et Guichard, Action des rayons X sur certains caractères des microbes (*Soc. de Biol.*, 24 juillet 1897). — Rieder, Wirkung der Röntgenstrahlen auf Bakterien (*Münch. med. Wochenschr.*, 25 janvier 1898). — Wolfenden et Forbes-Roos, A preliminary note on the action of Roentgen rays upon the growth and activity of Bacteria and micro-organisms (*The Lancet*, 25 juin 1898).

(1) P. Bert, Oxygène comprimé (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXX, p. 1579, et LXXXIV, p. 1130).

(2) Certes, De l'action des hautes pressions sur les phénomènes de putréfaction (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCIX, p. 385).

(3) Chauveau, De l'atténuation des cultures virulentes par l'oxygène comprimé (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCVIII, 1884, p. 1332, et *Ibid.*, C, 1885, p. 420).

(4) D'Arsonval et Charrin, Pression et microbes (*Soc. de Biol.*, 20 mai 1893).

(5) Malfitano, Sul comportamento dei microorganismi all' azione dei gasi compressi (*Boll. della Soc. med.-chir. di Pavia*, 1897).

(6) Roger, Action des hautes pressions sur les microbes (*Soc. de Biol.*, 3 déc. 1894).

montré aucune modification ; le *Bacille du charbon* avec spores n'a été que très légèrement atténué à 3000 atmosphères ; sans spores, il supporte encore facilement 1000 atmosphères, mais s'atténue vite au-dessus ; le *Streptocoque* se conduit de même.

Tout ceci tend à démontrer que, dans les conditions ordinaires, l'action de la pression peut être considérée comme négligeable et qu'en outre les espèces se comportent envers ce facteur d'une façon très différente.

Électricité. — L'action de l'électricité a été très discutée. Cohn et Mendelsohn (1) n'ont obtenu que peu de résultats dans leurs expériences instituées pour l'étudier. Des décharges électriques faibles et des courants continus de peu d'intensité n'ont pas d'action appréciable sur le développement des Bactéries dans le *liquide minéral de Cohn*, qui a servi comme milieu. Un seul élément n'a, suivant sa force, aucune action ou une simple action retardatrice. Les fortes décharges ou des courants puissants tuent en peu de temps les Bactéries en suspension dans le liquide. Ces derniers effets semblent dus exclusivement aux changements produits dans le liquide par l'électrolyse. Avec deux forts éléments, la stérilisation est complète au pôle positif où se portent les acides, en douze à vingt-quatre heures ; elle est loin d'être complète au pôle négatif où sont les alcalis. C'est la réaction du liquide qui est le principal facteur du phénomène. Ce qui corrobore encore cette opinion, c'est que le liquide du pôle positif fournit une abondante végétation de Levures et de Moisissures qui aiment les milieux acides, alors qu'il est impropre au développement des Bactéries, qui fourmillent au contraire au pôle négatif, où elles trouvent une réaction alcaline. Une forte batterie de trois éléments tue, en vingt-quatre heures, toutes les Bactéries en suspension dans la liqueur. Ici encore, la part du changement d'état du milieu n'a pas été faite.

C'est aussi à l'action chimique concomitante qu'il faut rapporter les résultats annoncés plus récemment par Apostoli et Delaquerrière (2) et Prochownick et Spaeth (3). Il en est de même de ceux que signalent Fermi (4), Krüger (5), Verhoogen (6).

D'Arsonval et Charrin (7) se sont mis à l'abri de cette cause d'erreur et ont étudié l'action de l'électricité sans faire intervenir de facteurs étrangers, production de chaleur ou modifications chimiques principalement ; pour cela, ils ont eu recours aux courants sinusoïdaux à haute ou à basse fréquence. En expérimentant sur le *Bacille pyocyanique*, ils ont observé l'influence évidente de l'électricité se traduisant, dans ce cas particulier, par une diminution de la puissance chromogène d'abord, puis par une diminution de la vitalité du microbe. En employant les

(1) Cohn et Mendelsohn, Ueber Einwirkung des electrischen Stromes auf die Vermehrung der Bacterien (*Beitr. zur Biol der Pflanzen*, 1876, III, p. 141).

(2) Apostoli et Delaquerrière, *C. R.*, 21 avril 1890.

(3) Prochownick et Spaeth, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1890, p. 564.

(4) Fermi, Reinigung der Abwässer durch Elektricität (*Arch. für Hygiene*, XII, 1892).

(5) Kruger, Ueber Einfluss des Constanten electrichen Stromes auf Wachstum und Virulenz der Bakterien (*Zeitschr. für klin. Med.*, XXII, 1893).

(6) Verhoogen, Action du courant galvanique constant sur les organismes pathogènes (*Bull. de la Soc. belge de microsc.*, XI, 1891).

(7) D'Arsonval et Charrin, Électricité et microbes (*Soc. de Biol.*, 15 juillet 1893). — Les toxines et l'électricité (*Soc. de Biol.*, 25 janvier 1896).

produits solubles seuls, la toxine diphtérique et la toxine pyocyanique, ces savants ont remarqué une atténuation manifeste de la virulence et même une disparition de toute nocivité après un temps d'exposition suffisant.

Smirnow (1) dit même pouvoir obtenir, par l'électrolyse de toxine diphtérique, une véritable antitoxine. Marmier (2), en répétant ses expériences, dans les mêmes conditions, n'a obtenu qu'une destruction de la toxine, comme d'Arsonval et Charrin, et pas de formation d'antitoxine.

Magnétisme. — Rien de bien certain ici. Dubois (3) a signalé l'influence de forts aimants sur l'orientation des colonies du *Micrococcus prodigiosus*, sans chercher toutefois à éviter de nombreuses causes d'erreur. La fermentation alcoolique occasionnée par la Levure de bière est, d'après d'Arsonval (4), manifestement retardée par l'influence du champ magnétique. Il en est peut-être de même pour les fermentations bactériennes.

Agitation. — L'agitation des milieux liquides, où vivent des Bactéries, est une condition défavorable au développement de ces êtres. C'est surtout aux Bactéries aérobies qu'elle doit nuire. Elle brise le voile qu'elles forment à la surface, et les fait tomber dans des couches profondes, où elles ne trouvent plus assez d'oxygène pour vivre à leur aise. Les hygiénistes peuvent noter cette observation et se rappeler que les masses d'eau immobiles, les citernes et les puits, doivent offrir, à bien des espèces nuisibles, de meilleures conditions de prolifération que les eaux courantes de fontaines et de rivières. D'après Pöhl (5), le mouvement tourbillonnant déterminé par une puissante turbine diminuerait dans des proportions considérables (90 p. 100 ?) le nombre des Bactéries de l'eau soumise à son action ; il y a là, certainement, un phénomène complexe où la seule action mécanique n'est pas en jeu ; l'oxydation plus forte qui se produit doit jouer un rôle, la simple centrifugation aussi.

Microorganismes.

L'action que peuvent exercer, sur les Bactéries, d'autres organismes inférieurs, vivant côte à côte dans le même milieu, est des plus variables. Elle paraît dépendre surtout des besoins de ces autres êtres en aliments. Il se produit souvent une véritable *concurrence vitale*. Ceux qui se plient le mieux aux conditions du milieu, ceux qui s'assimilent le mieux ses éléments composants sont ceux qui ont le plus de chance de prendre le dessus ; les autres s'amoindrissent, puis disparaissent. En seconde ligne interviennent les modifications que ces êtres peuvent faire subir

(1) Smirnow, Ueber die Behandlung der Diphterie mit Antitoxinen, die ohne Vermittelung der thierischen Organismus darstelbar sind (*Berl. klin. Wochenschr.*, 1894, p. 683). — Ueber die Behandlung der Diphterie mit künstlich dargestelhen Antitoxinen (*Berl. klin. Wochenschr.*, 1895, p. 645 et 675). — Note sur la détermination du pouvoir neutralisant du sérum antidiphtérique (*Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, IV, 1895, p. 328).

(2) Marmier, Les toxines et l'électricité (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 469).

(3) Dubois, Influence du magnétisme sur l'orientation des colonies microbiennes (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 1886, p. 127).

(4) D'Arsonval, *loc. cit.*, 1886, p. 128.

(5) Pöhl, Sur la filtration de l'eau de la Néva (*Wratsch*, 1886, nos 34 et 35, en russe).

au milieu, qu'ils rendent souvent défavorable au développement d'autres espèces ou même tout à fait mortel pour elles.

Cette influence n'est pas toujours mauvaise, mais parfois favorable à la vie simultanée de plusieurs types. Il est des cas où cette association apparaît comme des plus utiles et même comme nécessaire à la vie d'un type déterminé dans les conditions présentes du milieu. C'est ainsi que l'on a vu que la présence dans un milieu d'espèces aérobies pouvait y permettre le développement d'espèces anaérobies qui n'auraient pas pu végéter sans l'action absorbante à l'égard de l'oxygène exercée par les premières. Dans bien des cas, il se produit certainement une véritable *symbiose*.

D'une façon générale cependant, il y a le plus souvent *antagonisme* entre ces espèces qui vivent aux dépens d'un même milieu, parce que leurs besoins sont similaires. Les espèces se nuisent réciproquement et les plus fortes étouffent les plus faibles. C'est ce que l'on observe surtout dans le sol et dans les eaux, ces deux réceptacles d'organismes inférieurs ; on en verra plus loin des exemples frappants et instructifs.

A ce point de vue, il est impossible de dire quelque chose de bien général ; l'expérience seule apprend comment telle ou telle espèce se comporte dans des conditions déterminées.

Les actions que les diverses espèces de Bactéries peuvent, en vivant ensemble, exercer les unes sur les autres, est un point des plus intéressants. La concurrence vitale joue certainement un grand rôle dans la façon dont se comportent les organismes pathogènes dans le milieu extérieur ou même dans les organismes qu'ils attaquent. Les faits connus seront exposés lors de l'étude des espèces.

L'influence des Saccharomycètes, qui se trouvent assez fréquemment avec les Bactéries dans bien des milieux, est très peu connue. Dans la lutte, ce sont tantôt les unes, tantôt les autres, qui l'emportent, suivant les conditions du milieu et la nature des espèces qui s'y rencontrent. Il peut y avoir aussi une véritable symbiose, comme dans le Képhyr.

Les Moisissures paraissent plus nettement être de véritables antagonistes (1) des Bactéries.

Mais ici la seule réaction du milieu est peut-être la raison dominante ; les Moisissures préfèrent les milieux acides, les Bactéries ceux à réaction alcaline.

Les Amibes, les Infusoires paraissent détruire de nombreuses Bactéries qui font vraisemblablement partie de la nourriture de ces organismes.

III. — ACTION DES BACTÉRIES SUR LES MILIEUX OU ELLES VIVENT.

Les Bactéries se comportent, vis-à-vis des milieux où elles vivent, comme tous les êtres vivants. Elles y puisent des aliments qu'elles peuvent utiliser pour leur nutrition, et y rejettent les résidus de leur activité vitale. Ces échanges, qui sont souvent très complexes parce qu'ils intéressent plusieurs points à la fois, donnent naissance à des phénomènes apparents, portant d'un côté sur les caractères des Bactéries et de l'autre sur ceux du milieu. Ces manifestations peuvent varier suivant

(1) Duchesne, Antagonisme entre les Moisissures et les microbes. Thèse de Lyon, 1897.

l'espèce qui est en question, les conditions physiologiques où elle se trouve et la composition du milieu. Elles sont certainement en rapport très intime avec la nutrition, et pour beaucoup son résultat direct; il n'est cependant pas possible, dans l'état actuel de la science, de les rattacher toutes et en toute assurance à cette fonction. Et même, bien que ces divers phénomènes aient entre eux des relations certaines, de véritables airs de famille, on est forcé de les séparer plus qu'ils ne le sont en réalité dans l'ordre naturel, si l'on ne veut pas s'aventurer par trop dans l'hypothèse. C'est, du reste, d'une commodité plus grande pour l'étude.

Il n'est pas encore possible d'arriver à une généralisation de ces processus. Ils peuvent donner lieu à un simple dédoublement de produits contenus dans le milieu et attaqués par les Bactéries; dans la fermentation ammoniacale de l'urée, par exemple, la molécule d'urée se dédoublerait en deux molécules de carbonate d'ammoniaque. Ils aboutissent parfois à une oxydation extrême dont les produits ultimes sont de l'acide carbonique et de l'eau; souvent il ne se fait qu'une oxydation partielle, comme on le voit dans la fermentation acétique. Les phénomènes observés peuvent être des phénomènes de réduction, dus peut-être à l'action secondaire d'hydrogène naissant produit par la Bactérie; c'est ce qui s'observe, en particulier, pour de nombreux organismes des putréfactions qui réduisent alors les sulfates de l'eau ou du sol en produisant un dégagement d'hydrogène sulfuré.

La destruction complète, la transformation ultime du milieu, n'est que bien rarement, on pourrait même dire jamais, dans la nature comme dans les expériences, l'œuvre d'une seule espèce, mais plutôt d'une série d'espèces qui se succèdent, substituant et ajoutant leurs modifications, de telle sorte qu'une agit après l'autre, aux dépens de produits déjà modifiés par la première qui bien souvent ne peut plus continuer à vivre dans le milieu qu'elle a modifié.

Il semble bien que ces processus de destruction de la matière organique soient la véritable fonction, ou tout au moins la fonction fondamentale, que les Bactéries aient à remplir dans le monde. Ce sont des agents de décomposition des milieux où elles vivent; il est probable que les autres modifications observées ne sont pour elles que des fonctions secondaires, surajoutées ou acquises. En tout cas, on peut dire que la propriété de décomposer la matière organique est un fond commun à toutes les espèces; ce n'est qu'accessoirement, accidentellement peut-être, que certaines produisent des manifestations pathogènes, chromogènes ou autres. Il suit de là que les phénomènes de la putréfaction peuvent être considérés comme le véritable type des actions provoquées par les Bactéries.

Bactéries de putréfaction.

C'est dans les décompositions de substances animales ou végétales qu'ont été découvertes les Bactéries. Aussi a-t-on pensé de suite qu'elles devaient jouer un rôle important dans la production de ces phénomènes. On réserve, en général, le nom de *putréfaction* à tous les dédoublements des substances organiques azotées et surtout des matières albuminoïdes, *occasionnés surtout par des Bactéries*, accompagnés de produits volatils

d'odeur infecte. Le phénomène est d'habitude très complexe. La complexité résulte de la diversité des matériaux qui se putréfient et de la présence, dans presque tous les cas, d'un nombre plus ou moins grand d'espèces différentes, dont l'action peut considérablement varier (1). Des Moisissures, des Levures, des animaux inférieurs, contribuent aussi, peut-être, dans une mesure qui n'est pas connue, au phénomène de la putréfaction.

Les Bactéries de la putréfaction sont tantôt des espèces aérobies, tantôt des espèces anaérobies. Ces dernières ne se développent, toutefois, que lorsque l'oxygène est complètement absent du milieu. Aussi, si l'on observe un liquide qui se putréfie, on voit d'abord les aérobies envahir sa masse, et s'y développer luxurieusement, trouvant en abondance des aliments et de l'oxygène. Au fur et à mesure qu'ils consomment ce gaz, ils quittent les couches profondes, et se rapprochent de la surface, où ils finissent par se localiser. A ce moment, les anaérobies peuvent prospérer, protégés de l'accès de l'air par le voile que forment à la surface les débris des premiers occupants. L'aspect du phénomène change alors. Tandis que, grâce à la présence d'oxygène en abondance, les aliments pouvaient être complètement brûlés par les premiers êtres et transformés en composés très simples, inodores, comme l'acide carbonique et l'eau, ils ne subissent plus maintenant que des modifications bien moins complètes. Les résidus sont d'une complexité plus grande ; c'est, suivant les cas, des ammoniaques composées, des mercaptans (2), des acides gras volatils, d'odeur repoussante, des produits d'odeur fécaloïde très pénétrante, comme l'indol (3), le scatol. De plus, beaucoup d'anaérobies peuvent produire de l'hydrogène gazeux qui, rencontrant, à l'état naissant, du soufre, du phosphore, dans les composés albuminoïdes, donne de l'hydrogène sulfuré (4) et de l'hydrogène phosphoré, dont la mauvaise odeur vient s'ajouter à celle des substances précédentes et former le fumet repoussant de putréfaction (5), variant suivant la qualité et la quantité de ses divers composants. La présence d'hydrogène naissant n'est du reste pas nécessaire pour expliquer la production d'hydrogène sulfuré. Ray-Pailhade (6) a en effet démontré qu'il existait dans le protoplasme une substance réductrice, véritable diastase, soluble dans l'alcool, qu'il a nommée *philothion*, capable de réduire à froid le carmin d'indigo et de donner de l'hydrogène sulfuré avec la fleur de soufre. A côté de ces produits volatils, on trouve des produits fixes, résidus, comme les premiers, de l'activité vitale des Bactéries. Au premier rang sont la leucine, la tyrosine, le glycocolle et enfin des ptomaïnes diverses, ces bases toxiques accompagnant si souvent les déchets de la vie des cellules. La putréfaction des solides est toujours précédée d'une dissolution préalable qu'opèrent les diastases sécrétées.

(1) Consulter surtout : Duclaux, Chimie biologique (*Encycl. chim.* de Frémy, p. 726 et suiv.).

(2) Petri et Maassen, *Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, VIII, 1893, p. 490).

(3) Lewandowsky, Ueber Indol und Phenolbildung durch Bakterien (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1890, n° 51).

(4) Morris, Studien über die Produktion von Schwefelwasserstoff, Indol und Merkaptan bei Bakterien (*Arch. für Hygiene*, XXX, 1897, p. 304).

(5) Duclaux, Sur les odeurs de putréfaction (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 59).

(6) Ray-Pailhade, Recherches expérimentales sur le philothion. Paris, 1891. — Le philothion et le soufre (*Assoc. franç. pour l'av. des sc., Congrès de Besançon*, 1893).

Les espèces causes de la putréfaction sont nombreuses et encore peu connues, pour la plupart, tant au point de vue morphologique qu'au point de vue physiologique. Ce sont le plus souvent des Bacilles longs ou courts, parfois des *Micrococcus* ou des formes spiralées très mobiles. La part à attribuer à chaque espèce n'est pas encore déterminée.

Malgré cette incertitude où l'on est encore sur la part qui revient aux différentes espèces qui se rencontrent dans les putréfactions, on peut déjà se faire une idée générale, schématique en quelque sorte, du phénomène, au moins dans ses grandes lignes. Il est du reste facile de suivre pour ainsi dire pas à pas les modifications qui se produisent, en observant la putréfaction des produits azotés, de la viande ou du poisson par exemple, qu'on laisse putréfier dans l'eau, putréfaction qu'on peut prendre comme type. Il faut un temps très long, plusieurs années parfois, pour que la destruction soit complète, par conséquent que le processus de putréfaction soit entièrement terminé. Il y a vraiment dans ce phénomène une succession non interrompue non seulement de véritables flores bactériennes, mais encore de flores d'organismes inférieurs autres, de telle sorte qu'à une de ces flores correspond une phase déterminée du processus.

La part qui revient aux Bactéries dans une telle putréfaction peut se diviser en trois temps ou trois phases. Tout au début, dans une première phase, on rencontre en abondance les saprophytes ordinaires communs partout, les *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus vulgatus*, *Bacterium termo*, les Bacilles I, II et III décrits par Mouginet (1); on ne perçoit encore qu'une odeur faible, plutôt fade : ce n'est pas encore la vraie putréfaction. Un jour ou deux après, suivant la température, les phénomènes s'accentuent, l'odeur devient plus forte surtout; les espèces précédentes ont cédé le pas à d'autres, où dominent les *Bacillus fluorescens liquefaciens*, *Bacillus fluorescens putridus*, *Bacillus violaceus*; c'est une seconde phase du phénomène. Quelques jours après, l'odeur est nettement putride; c'est alors, troisième phase, qu'apparaissent les *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis* qui dominent bientôt et deviennent envahissants. C'est alors, et cela se conçoit très bien quand on connaît les particularités biologiques de ces espèces, qu'apparaissent dans les putréfactions les produits les plus toxiques et les plus dangereux, les produits obtenus dans le début de la putréfaction, dans les deux premières phases, étant inoffensifs ou peu actifs.

Cette troisième phase de la putréfaction bactérienne dure plus ou moins longtemps, selon la résistance que la matière qui se putréfie offre à la solubilisation par les diastases sécrétées par les Bactéries. A ce moment, le liquide renferme une forte proportion d'hydrogène sulfuré, beaucoup de produits odorants, des ammoniaques composées entre autres. Apparaissent alors des *Beggiatoa* blanches ou roses qui forment des flocons épais dans le liquide où fourmillent encore beaucoup de Bactéries. Dans cette phase terminale, la vie est bientôt peu active ; le liquide s'éclaircit lentement, les Sulfuraires disparaissent; les rares formes bactériennes qu'il contient ne donnent plus de cultures dans les milieux ordinaires. C'est très probablement à ce moment que la nitrification se produit, après la disparition de toute matière organique. Tout

(1) Mouginet, Quelques Bactéries des putréfactions. Thèse de Nancy, 1890.

d'un coup, après un long temps d'attente, il apparaît une abondante moisson d'Algues vertes, des types inférieurs, indiquant que la substance organique s'est enfin transformée en produits simples que la plante à chlorophylle peut assimiler, et à l'aide desquels elle peut bâtir des composés complexes, en apportant le carbone qu'elle emprunte à l'acide carbonique du milieu, reconstituant ainsi des corps doués d'une énergie latente, prêts à suffire aux besoins vitaux d'organismes élevés.

On saisit ainsi facilement le rôle considérable que les Bactéries remplissent dans la nature. C'est à elles qu'est échue la mission de rendre assimilables pour les plantes, en les réduisant en composés simples, minéraux, les substances organiques qui ne peuvent plus servir aux organismes supérieurs, entre autres toutes celles qui ont perdu par usure l'énergie utilisable pour eux, et qui sont alors fixées sous des formes insolubles ; tous leurs produits de déchet d'abord, l'urée par exemple, cette forme si importante de la désassimilation de la matière azotée chez les animaux, les résidus de la digestion, les cadavres des animaux, les détritus de toutes sortes des animaux ou des plantes. C'est à leur aide d'abord et ensuite à l'aide de l'énergie solaire, qui détermine la fonction chlorophyllienne, que les plantes reforment, avec ces matériaux, des albuminoïdes, des hydrocarbonés, des graisses.

Bactéries de fermentation.

Dans l'action de certaines espèces sur le milieu où elles vivent, il se produit, par suite de leur développement aux dépens du substratum, des modifications importantes de ce dernier. L'aliment passe dans la cellule, y est transformé en molécules plus simples, puis rejeté au dehors où les résidus s'accumulent. On dit qu'il y a *fermentation*. Ce phénomène, comme le précédent, est intimement lié à la nutrition de ces espèces et en rapport immédiat avec leur activité vitale. La vie de ces *Bactéries ferments* est donc la cause directe de telles modifications qui s'affaiblissent ou cessent, lorsque la vie de l'espèce s'amoindrit ou s'éteint (1).

A vrai dire, la fermentation ne peut guère se séparer de la putréfaction. La fétidité des produits n'est qu'un caractère de minime importance ; d'ailleurs, il y a des fermentations très puantes et certainement des putréfactions sans grande odeur. La distinction paraît être basée simplement sur la qualité du résultat. Pour l'homme, une Bactérie est *ferment* lorsqu'elle peut lui fournir des produits directement utiles ; les espèces des putréfactions n'en sont pas encore arrivées là.

Les produits ultimes de la fermentation peuvent être très simples. Une matière ternaire, le sucre, l'alcool, peut être transformée en acide carbonique et en eau. C'est le cas le moins compliqué, que l'on ne considère même généralement pas comme fermentation, réservant ce nom aux réactions qui fournissent des composés plus complexes. Pour le physiologiste, ce doit être cependant la dernière phase du phénomène. Lorsque la Zooglée du *Bacillus aceti*, la *Mère du vinaigre*, a transformé en acide acétique tout l'alcool du milieu où on la cultive, elle s'attaque à l'acide acétique qu'elle peut brûler complètement, si elle n'a pas d'autres aliments à sa disposition. Mais il n'y a pas ici le critérium utili-

(1) Duclaux, Chimie biologique. — Schutzenberger, Les fermentations.

taire; ce n'est pas à proprement parler une fermentation, la modification a été conduite trop loin.

Les réactions, qui forment la base des fermentations, varient suivant l'espèce de Bactérie en jeu et suivant ses besoins.

Certaines espèces demandent, pour faire fermenter leur substratum, la présence de l'oxygène en abondance; il semble y avoir oxydation simple de la matière première. Ce sont les fermentations par *oxydation.*

Le *Bacillus aceti*, lorsqu'il se développe régulièrement, dans un liquide alcoolique approprié, oxyde l'alcool et le transforme en acide acétique.

Les *Bactéries nitrifiantes* du sol, au contact des bases ou des carbonates alcalins ou terreux, oxydent les composés ammoniacaux et les transforment en nitrates ou en nitrites (1).

D'autres fois, l'oxygène n'est pas nécessaire; il est même nuisible. L'espèce, qui est anaérobie, produit de l'hydrogène naissant, qui agit comme réducteur sur le substratum. Ce sont des fermentations par *réduction.*

Le type en est la fermentation *butyrique.* Pasteur a montré que le *Bacillus butyricus*, son *Vibrion butyrique*, était un agent de la transformation de l'acide lactique et d'un grand nombre de composés ternaires, les sucres, les matières amylacées, la cellulose, en acide butyrique. La fermentation ne s'accomplit qu'à l'abri de l'air. Plusieurs autres espèces de Bactéries peuvent être ferments butyriques; quelques-unes même, véritables aérobies, produisent cette fermentation en présence de l'oxygène. Le *Bacillus violaceus*, abondant dans les eaux riches en matières organiques, donne de l'acide butyrique (2), dans certaines cultures à l'air. L'équation de la réaction est évidemment autre que dans le premier cas.

Dans les fermentations par *dédoublement*, la réaction paraît beaucoup plus simple; la molécule du produit initial se scinde exactement et donne deux molécules d'un autre produit. L'urée, soumise à l'action du *Micrococcus ureæ* et de quelques autres espèces, se dédouble en donnant du carbonate d'ammoniaque.

Pour ces différents cas, l'action de l'être vivant sur le substratum peut sembler directe, celle du *Bacillus aceti* sur l'alcool par exemple, ou ne se produire que par intermédiaire. Ainsi, l'urée subit la transformation en carbonate d'ammoniaque sous l'influence d'un *ferment soluble* isolé par Musculus (3), que Pasteur et Joubert (4) ont montré être sécrété par le *Micrococcus ureæ* et que Miquel (5) a retrouvé chez de nombreuses espèces.

On doit rapprocher certainement des fermentations la dissolution des matières albuminoïdes par les espèces qui forment des peptones à leurs dépens. C'est un stade de début de la putréfaction, encore un lien qui réunit ces deux phénomènes. Ces transformations sont causées par de

(1) Schloesing et Muntz, Recherches sur la nitrification (*C. R. des séances de l'Acad. des sc.*, t. LXXXIX, 1879, p. 91 et 1074).

(2) Macé, Sur quelques Bactéries des eaux de boisson (*Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég.*, avril 1887).

(3) Musculus, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1876.

(4) Pasteur et Joubert, Sur la fermentation de l'urine (*Ibid.*, 1876).

(5) Miquel, Études sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée (*Ann. de micr.*, 1889 à 1896).

nombreuses Bactéries dont quelques-unes seulement sont suffisamment connues. Duclaux (1) a décrit dans une étude magistrale les modifications que des *Bacilles*, qu'il réunit sous la dénomination de *Tyrothrix*, font subir à la caséine du lait. Il serait grandement à souhaiter que de semblables recherches fussent entreprises. L'action des Bactéries sur les matières azotées fournirait sans doute des renseignements importants à la physiologie et à la pathologie.

L'action des *grains de képhyr* sur le lait est un bon exemple à citer. Nous avons vu précédemment que leur composition était complexe et chacune des parties constituantes concourt, dans la mesure de son activité physiologique propre, au but final. La Zooglée d'aspect tout spécial renferme deux espèces de Bactéries et une Levure, peut-être identique à la *Levure de bière*, le *Saccharomyces cerevisiæ*. L'une des Bactéries est en courts bâtonnets, trapus, immobiles; c'est le *ferment lactique* de Pasteur, le *Bacillus lacticus*; l'autre est de longs Bacilles lentement mobiles, présentant souvent deux légers renflements aux extrémités, c'est une espèce peut-être particulière, le *Bacillus caucasicus*. Le rôle de ces différents êtres est bien distinct. Le *Bacillus lacticus* sécrète de la présure qui coagule la caséine du lait, phénomène nécessaire pour sa transformation ultérieure, et de plus fournit une diastase particulière qui hydrate le lactose, le change en maltose, apte à subir la fermentation alcoolique que la Levure produit à ses dépens. Le *Bacillus caucasicus* dissout, à l'aide de la caséase qu'il produit, la caséine précipitée, la transforme en une albumose. Le lait, au début opaque et tenant en suspension des flocons de caséine précipitée, est bientôt transformé en un liquide transparent, riche en peptones, légèrement acide et contenant une assez forte proportion d'acide carbonique et des traces d'alcool; ces deux produits viennent de l'action de la Levure sur la matière sucrée.

Dans tous ces phénomènes, l'action exercée par l'être vivant, qui est ferment, est en grande disproportion avec son poids. Des quantités très petites du premier peuvent transformer une proportion relativement considérable de matière fermentescible. Ainsi Duclaux (2) calcule qu'une seule *Bactérie du vinaigre* détruit en vingt-quatre heures de 50 à 100 fois son poids d'alcool. C'est un des caractères essentiels des ferments.

Il est des fermentations produites par des microbes où l'on observe un notable dégagement de chaleur. Ce sont, par exemple, celles qui se produisent souvent dans le fumier frais, dans le foin humide, dans les cônes de houblon entassés ou dans le tabac mis en préparation. La température observée dépasse souvent 70°. Les espèces qui agissent, pouvant être dénommées *Bacilles thermogènes* (3), sont encore peu connues; nous avons vu (p. 76; Voy. aussi: *Bacilles thermophiles*) qu'un certain nombre d'espèces vivaient très bien à ces températures. Le phénomène serait probablement un phénomène d'oxydation. D'autres êtres, principalement des Moisissures, peuvent déterminer le même phénomène.

(1) Duclaux, Le lait. Paris, 1887, J.-B. Baillière.

(2) Duclaux, Chimie biologique.

(3) Cohn, Ueber thermogene Bakterien (*Berichte der deutschen bot. Gesellschaft*, 1893, p. 66).

Bactéries pathogènes.

Parmi les nombreuses espèces de Bactéries, répandues partout dans la nature, les unes, le plus grand nombre heureusement, ne semblent exercer aucune action nuisible sur les êtres vivants. Elles vivent aux dépens des matières organiques *mortes*, qu'elles transforment et solubilisent en partie à l'aide de leurs diastases. On leur a donné le nom de *Bactéries saprophytes* (σαπρός, putride; φυτὸν, plante) (1). Beaucoup d'entre elles appartiennent aux groupes précédemment étudiés des Bactéries de putréfaction ou de fermentation.

D'autres peuvent, sous certaines conditions, s'implanter dans les organismes *vivants*, animaux ou plantes, où leur développement détermine des troubles profonds, parfois mortels. Ce sont les *Bactéries parasites* ou *pathogènes*.

Il en est de ces dernières qui semblent ne pouvoir vivre que dans des hôtes de nature déterminée. Sorties de là pour une cause ou pour une autre, mort ou séparation de parties, elles tombent en vie latente ou meurent si elles n'ont pas à leur portée une voie nouvelle d'*infection*. Ce sont des *parasites obligés*. Le nombre en diminue tous les jours. On réussit en effet à faire vivre la plupart de ces espèces en saprophytes dans des milieux artificiels ; il est dès lors probable que des faits analogues se passent dans la nature.

Les *parasites facultatifs*, au contraire, peuvent se développer et évoluer dans les milieux nutritifs non organisés, vivre comme les espèces *saprophytes*, tout aussi bien que dans les hôtes où elles occasionnent des troubles spéciaux. Nous en trouverons de nombreux exemples. La Bactérie du choléra, celle de la fièvre typhoïde, peuvent vivre dans les eaux potables, dans le sol, dans d'autres milieux naturels, où elles pullulent rapidement par voie de division, y forment même leurs spores et peuvent rester ainsi pendant un temps très long, attendant, pour exercer leurs ravages si terribles, qu'elles pénètrent dans les organismes attaquables par elles.

On trouve souvent, dans un organisme, des espèces qui s'y développent sans influencer d'une façon nuisible son fonctionnement. C'est ainsi qu'à l'état normal le tube intestinal de l'homme et des animaux renferme, dans ses différentes parties, un nombre assez considérable d'espèces, apportées probablement avec les aliments et les boissons. Elles trouvent dans l'intestin un milieu très favorable et s'y multiplient. A proprement parler, ce ne sont pas des *parasites*, mais des *commensaux*. L'action de plusieurs de ces Bactéries n'est pas connue et passe tout à fait inaperçue. D'autres jouent certainement un grand rôle dans la digestion en la renforçant à l'aide de leurs diastases ; il est même à penser que la digestion de certaines substances, la cellulose par exemple, doit être entièrement attribuée à cette *digestion bactérienne* qui s'ajoute à la digestion naturelle et se confond avec elle (2). De telles espèces peuvent plutôt être considérées comme directement *utiles* à l'organisme qui les contient ; c'est un véritable état de *symbiose* qui s'établit entre eux. Pasteur a même été jusqu'à dire que peut-être sans ces Bactéries utiles, la nutrition et par conséquent la vie seraient impossibles ; c'est une question

(1) De Bary, Leçons sur les Bactéries, traduit par Wasserzug, 1886.
(2) Duclaux, Le microbe et la maladie, 1897, p. 109.

controversée aujourd'hui; nous y reviendrons plus loin en traitant des Bactéries du corps et de l'intestin en particulier. Certaines, cependant, dans des conditions peu précisées encore, peuvent devenir nuisibles pour l'organisme à la suite d'une pullulation trop grande ou d'une action affaiblissante s'exerçant sur lui.

Parmi les maladies occasionnées par les Bactéries pathogènes, il en est qui semblent n'être jamais le résultat d'une infection naturelle, mais n'être provoquées chez les animaux qu'artificiellement, par l'expérimentation; on les a réunies sous la dénomination de *maladies expérimentales* (1). Telles sont les septicémies obtenues par Coze et Feltz (2) à la suite d'inoculations, à des chiens ou des lapins, de liquides de putréfaction; celles déterminées par Koch (3) sur les lapins et les souris par injection de sang putréfié. Telle était autrefois la septicémie de Pasteur. En lévigeant de la terre végétale et chauffant à 90° le liquide décanté pour tuer une partie des germes qu'il contient, Pasteur a isolé une Bactérie dont l'inoculation détermine, chez les animaux, des accidents redoutables suivis d'une mort rapide; c'est le *Bacillus septicus*, le *Vibrion septique* de Pasteur, agent de la *septicémie de Pasteur* (4). Longtemps on a cru cette maladie purement expérimentale. Or, il est aujourd'hui démontré que les accidents connus chez l'homme et les animaux sous les noms de grangrène gazeuse, septicémie gangreneuse, œdème malin, sont dus en grande partie à cette espèce (5). Il en sera probablement de même pour les autres affections septiques décrites.

Pasteur a établi que, pour pouvoir affirmer en toute assurance qu'une Bactérie donnée est la cause réelle d'une réaction observée, il fallait l'observer pendant que le phénomène s'accomplissait, l'isoler en culture pure et enfin reproduire la réaction primitive en inoculant de ces cultures à un milieu nouveau dépourvu d'autres germes (6). Il a appliqué ces préceptes à l'étude des Bactéries pathogènes; les conclusions ont été précisées et formulées par Koch dans la proposition suivante : Pour qu'une Bactérie puisse être considérée avec raison comme cause d'une maladie, il faut : 1° la trouver dans les tissus ou les liquides de l'organisme d'un individu malade ou d'un cadavre; 2° l'isoler et en obtenir des cultures pures; 3° reproduire la maladie par inoculation de cultures pures à des individus sains; 4° retrouver la même espèce dans cette dernière expérience.

Les méthodes qui permettent de rechercher les Bactéries dans les tissus ou dans les liquides seront exposées en détail plus loin. L'observation est parfois très délicate; les germes infectieux peuvent se localiser, ne se rencontrer qu'à certains endroits du corps. C'est ainsi que souvent, dans la fièvre typhoïde, le sang de la circulation périphérique se montre le plus souvent tout à fait dépourvu du Bacille spécial que l'on retire abondamment du sang de la rate. Les parasites peuvent ne se montrer

(1) Cornil et Babès, Les Bactéries, 2e édit., 1886, p. 212.

(2) Coze et Feltz, Recherches chimiques et expérimentales sur les maladies infectieuses. Paris, 1872. J.-B. Baillière.

(3) Koch, Untersuchungen über die Ætiologie der Wundinfections Krankheiten, 1878.

(4) Pasteur, Sur le vibrion septique (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1877).

(5) Chauveau et Arloing, De la septicémie gangreneuse (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 6 mai 1886).

(6) Pasteur, Mémoire sur la fermentation appelée lactique (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XLV, 1857, p. 913).

qu'à certains moments : le *Spirillum Obermeieri* n'apparaît dans le sang des malades atteints de *typhus récurrent* que pendant les accès ; c'est en vain qu'on le cherche dans les intervalles. Le microbe pathogène peut même se localiser d'une façon absolue en un endroit déterminé et ne pas se rencontrer ailleurs dans l'organisme. C'est ainsi que le *Bacille de la diphtérie* peut ne se rencontrer que dans la lésion locale qui est le plus souvent une fausse membrane, le *Bacille du tétanos* dans les environs de la plaie tétanique qui est souvent minime. Bien plus, dans ces deux derniers cas, le microbe pathogène a parfois disparu au moment des recherches ; on peut alors n'avoir que des résultats négatifs. La présence constante d'une même Bactérie sur le cadavre ne suffit pas pour la considérer comme cause de l'affection ; on sait que le *Vibrion septique* se trouve souvent dans ces conditions peu de temps après la mort. Sa présence sur le vivant, pendant la période d'état, est d'une plus grande valeur, elle ne suffit cependant pas ; les autres conditions sont nécessaires à obtenir. Le *Colibacille*, provenant de l'intestin, envahit encore plus vite l'organisme et a pu ainsi induire en erreur ; il est démontré que très peu de temps après la mort, avant même, pendant l'agonie, ce microbe peut traverser l'intestin, pénétrer dans la circulation et arriver rapidement dans les organes profonds (1). Beco (2), en soumettant des animaux à certaines intoxications, en usant particulièrement de substances qui irritent violemment l'intestin comme l'émétique, a pu déterminer le passage du *Colibacille* dans le sang, chez l'animal en pleine vie. C'est surtout la reproduction expérimentale de la maladie, au moyen de cultures pures, qui peut rendre affirmatif sur les rapports étiologiques soupçonnés.

La condition nécessaire pour que ces inoculations donnent des résultats estimables, est d'employer des matières pures de tout germe étranger. S'il en existe, il peut se produire des complications gênantes ; leur action peut même se substituer entièrement à celle que l'on cherche à observer. Ainsi, si l'on injecte à un lapin du sang charbonneux putréfié, qui contient cependant une forte proportion de spores de *Bacillus anthracis*, ce n'est pas le *charbon* que l'on obtient le plus souvent, mais une *septicémie* à marche spéciale dont Charrin (3) a décrit une forme intéressante. Le développement de la *Bactérie septique* a été plus rapide que celui de la *Bactérie charbonneuse* qui a dû disparaître ou, tout au moins, céder le pas.

La maladie que l'on veut reproduire doit être transmissible à l'espèce animale sur laquelle on expérimente. C'est une grave question qui n'est pas encore résolue pour bien des affections contagieuses. Certaines maladies de l'homme ne semblent pas en effet se transmettre aux animaux que l'on a cherché à infecter ; dans d'autres cas, l'agent virulent semble modifier son action et produire des troubles différents. On n'arrive quelquefois à un résultat, qu'en changeant profondément les conditions physiologiques des individus sur lesquels on opère. Les oiseaux passaient pour réfractaires au charbon : Pasteur est parvenu à rendre faci-

(1) Achard et Phulpin, Envahissement des organes pendant l'agonie et après la mort (*Arch. de méd. expér.*, 1895).

(2) Beco, Étude sur la pénétration des microbes intestinaux dans la circulation générale pendant la vie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 199).

(3) Charrin, Sur une septicémie consécutive au charbon (*Soc. de Biol.*, 2 août 1884).

lement des poules charbonneuses en leur refroidissant les pattes avant ou après l'inoculation (1). Gibier (2) a pu faire périr du charbon, en les échauffant jusque vers 30°, des grenouilles et des lézards, qui avaient toujours été considérés comme indemnes. Il faut parfois modifier plus profondément l'organisme à infecter, créer de véritables prédispositions morbides, pour permettre à la Bactérie inoculée de s'implanter et de croître. Nicati et Rietsch (3) ont réussi à déterminer le choléra chez des cobayes en injectant d'une culture pure directement dans le duodénum ; c'est l'irritation intestinale produite qui était le principal adjuvant. Koch (4) a obtenu le même résultat en injectant de fortes doses de teinture d'opium dans la cavité abdominale et paralysant ainsi l'intestin, pour permettre aux *Bacilles virgules* de séjourner plus longtemps dans son intérieur. Il peut suffire de changer la réaction des liquides de l'organisme en les alcalinisant ; acides, ils s'opposent au développement des Bactéries.

Les autopsies doivent être pratiquées au plus tôt, pour éviter l'envahissement par des espèces étrangères.

Les Bactéries saprophytes vraies semblent n'avoir aucune action nuisible sur l'organisme. Wyssokowitsch a pu injecter des doses considérables de différentes espèces saprophytes, dans les veines de lapins, cobayes, chiens, sans produire de troubles appréciables (5). Ces recherches ont été pleinement confirmées par celles de Banti (6). Bien qu'introduites en quantité énorme, elles disparaissent du sang en quelques heures ; le foie, la rate, la moelle des os, en renferment encore, alors que le sang n'en contient plus ; vingt-quatre heures après une injection massive de *Bacillus subtilis*, on n'en trouve plus nulle part, dans le cas où la culture ne contenait que des cellules végétatives ; s'il y avait des spores, on peut en retrouver de vivantes dans le foie ou la moelle des os, jusque plusieurs mois après l'expérience.

Les Bactéries pathogènes, introduites à doses modérées, se raréfient d'abord, disparaissent du sang, reparaissent au bout de quelque temps, puis augmentent jusqu'à la mort. D'après les recherches de Fodor (7), les Bactéries du charbon ne se retrouvent plus dans le sang quatre heures après l'injection ; le sang n'est ni fertile, ni contagieux ; elles sont pour ainsi dire immobilisées dans les viscères, où elles se multiplient et reparaissent dans le sang de vingt à cinquante-quatre heures après l'opération, pour s'y développer et causer rapidement la mort.

Les recherches précitées de Banti semblent prouver qu'au début, alors que l'on n'en retrouve plus dans le sang, elles se concentrent dans les lymphatiques.

(1) Pasteur, Étiologie du charbon (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1879, p. 1152).
(2) Gibier, *in* Cornil et Babès, Les Bactéries, 3e éd., t. II, p. 214.
(3) Nicati et Rietsch, Recherches sur le choléra (*Arch. de phys.*, 1885, n° 5).
(4) Koch, Conférences sur le choléra, 1884 et 1885.
(5) Wyssokowitsch, Ueber die Schicksale der in's Blut injectiren Microorganismen im Korper der Warmblüter (*Zeitschr. für Hygiene*, t. I, 1, 1886).
(6) Banti, Sulla distruzione dei batteri nell' organismo (*Arch. per le sc. med.*, 1888, XIII).
(7) Fodor, Neue Versuche mit Injection von Bacterien in die Venen (*Deutsche. med. Wochenschr.*, 1886, p. 617).

D'après Trapeznikoff (1), les spores de Bactéries pathogènes, introduites dans l'organisme, saisies par les leucocytes avant leur développement, peuvent se conserver très longtemps vivantes et virulentes dans les leucocytes non altérés. Elles peuvent être ainsi transportées et emmagasinées en quelque sorte dans les organes profonds. Dès que la vitalité du leucocyte diminue ou disparaît, ces spores germent.

Nous avons vu précédemment (p. 46 et suiv.) que les Bactéries agissaient sur les milieux aux dépens desquels elles vivent, surtout par l'action de produits particuliers qu'elles forment pendant leur évolution, produits de sécrétion ou d'excrétion; nous savons que ces produits contribuent pour une large part ou pour la totalité à leur action physiologique. Ceci est surtout vrai pour les Bactéries pathogènes.

On a beaucoup discuté sur la raison de l'action des Bactéries pathogènes; diverses théories ont successivement pris place dans l'opinion. Les premières, il faut le reconnaître, étaient plutôt de simples vues de l'esprit. C'est ainsi que la *Bactéridie charbonneuse* paraissait nuire en détournant l'oxygène ou en provoquant des embolies capillaires; d'autres en absorbant des substances alimentaires dont elles privaient ainsi les cellules. L'idée qu'on s'en fait aujourd'hui est surtout basée sur l'expérimentation et semble la vraie. L'expérience démontre, en effet, que beaucoup de Bactéries pathogènes produisent des substances qui, introduites dans l'organisme séparément des microbes, déterminent les mêmes effets que ces derniers, ou au moins les effets typiques observés à la suite de l'envahissement de l'organisme par ces microbes. On tend à démontrer actuellement que la majeure partie des Bactéries pathogènes sécrètent de ces substances toxiques, de ces *toxines*, ce qui a substitué la notion d'intoxication par ces produits à la notion de l'action directe du microbe sur les éléments ou les liquides de l'organisme. Ce qui se passe dans la diphtérie ou le tétanos est un des meilleurs exemples à citer à l'appui. Là, en effet, le microbe ne se trouve que dans un point bien limité de l'organisme attaqué, la fausse membrane pour la diphtérie, souvent une bien petite plaie pour le tétanos; il s'y cantonne exclusivement, et comme il produit des phénomènes généraux d'intoxication, ce ne peut être que par suite de la diffusion de substances toxiques formées au lieu où il se trouve, substances qui, emportées par la voie sanguine, vont agir sur les différents systèmes.

Nous avons vu (p. 50) que ces produits nocifs des Bactéries sont de deux sortes, les *ptomaïnes*, produits alcaloïdiques, et des composés d'un groupe spécial, que leur composition, leurs propriétés font regarder comme des matières albuminoïdes, les *toxines* ou *toxalbumines*. Nous savons que ces dernières, par certains de leurs caractères, surtout leur précipitation par l'alcool, leur adhérence aux précipités, leur resolubilisation dans l'eau, leurs modifications par l'air, la lumière, la chaleur, les effets considérables qu'elles produisent à doses excessivement minimes, se rapprochent des diastases et peuvent être considérées

(1) Trapeznikoff, Du sort des spores de microbes dans l'organisme animal (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1891).

comme appartenant au même groupe. Ce qui vient aussi à l'appui du rôle qu'on veut leur faire jouer aujourd'hui, c'est que certains de ces produits, comme le prouvent les recherches de Bouchard (1), de Griffiths (2) principalement, se trouvent tout à la fois dans les milieux de cultures où vit l'espèce pathogène étudiée et dans les émonctoires, l'urine surtout, des malades atteints de l'affection causée par le microbe.

Si les recherches sur l'action physiologique de ces toxines sont encore loin d'être menées à bonne fin, il faut reconnaître qu'elles ont déjà fourni nombre de faits intéressants, jetant une vive lumière sur l'action des microbes pathogènes. Ces recherches physiologiques sont, au point de vue qui nous occupe, d'une importance considérable; après les nombreux travaux qu'elles ont déjà suscités, la voie est encore largement ouverte à l'expérimentation. Les faits mis en lumière par bien des chercheurs, Bouchard, Arloing, Charrin, Roger, Courmont et Doyon, principalement, donnent des indications précieuses. Ils démontrent que les toxines provoquent des modifications importantes dans la circulation du sang ou de la lymphe; ils prouvent leur influence sur le système nerveux, cérébral ou médullaire, leurs effets sur la nutrition générale, sur les sécrétions diverses, sur la fibre musculaire, ce qui donne l'explication de bien des particularités des infections. Rien que l'action de certaines toxines sur le système vasomoteur, démontrée par Bouchard, Charrin (3) et Gley, permet d'expliquer avec toute satisfaction des phénomènes si souvent observés, les congestions, les anémies, l'œdème, surtout la diapédèse que nous verrons plus loin si importante pour la défense de l'organisme, les hémorragies, si fréquentes dans la peau dans beaucoup d'infections provoquant des taches rosées, de l'érythème, du purpura, des pétéchies.

On ne sait que bien peu de choses au sujet de la production de ces toxines; il est des conditions qui leur sont favorables, d'autres qui leur sont contraires. Guinochet (4) a démontré qu'elles ne provenaient pas nécessairement des albuminoïdes du milieu, mais pouvaient être formées, par synthèse, aux dépens de corps plus simples.

A ce même point de vue, la question de la voie d'introduction, de diffusion des toxines dans l'organisme, se montre importante. Les recherches de Bouchard, de Gamaléia, de Charrin démontrent que la *porte d'entrée* influence d'une façon très notable la toxicité de beaucoup de produits microbiens. L'organisme possède de véritables protections naturelles contre ces poisons, c'est ce qui fait qu'une voie peut être plus favorable qu'une autre ou inversement. Ainsi, l'intestin modifie ou détruit même la plupart du temps ces toxines; le suc gastrique et le suc pancréatique paraissent surtout être actifs (5); il y a

(1) Bouchard, Cours de pathologie générale, 1888.

(2) Griffiths, Les ptomaïnes dans quelques maladies infectieuses (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CXIV, 1892, p. 496).

(3) Charrin, La maladie pyocyanique, 1889.

(4) Guinochet, Sur la toxine du Bacille de la diphtérie (*Soc. de Biol.*, 28 mai 1892).

(5) Carrière, Étude expérimentale sur le sort des toxines et des antitoxines introduites dans le tube digestif des animaux (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 435). — Nencki, Sieber et Schoumow-Simanowski, Die Entgiftung der Toxine durch Verdauungssäfte (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 840 et 880). — Wehrmann, Contribution à l'étude du venin des serpents (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 510).

peut-être lieu de faire intervenir l'action des microbes intestinaux (1). La voie vasculaire, au contraire, est très favorable à la production de leurs effets toxiques, elle peut même les aggraver.

De plus, les toxines n'agissent pas immédiatement comme un poison; il y a au contraire, dans leur action, une véritable *incubation*. Ce qui paraît indiquer que la substance active provoque, dans l'organisme, des dédoublements portant probablement sur des substances albuminoïdes qui donneraient seulement les vrais agents toxiques (Sidney, Martin).

Les principes sécrétés par les Bactéries ne convergent pas tous vers un but unique, favoriser le microbe, produire les effets typiques de l'infection. Les travaux de Bouchard, Arloing, Roux, Chamberland, Yersin, Vaillard, ont démontré qu'à côté des toxines, produits nuisibles pour l'organisme, il pouvait s'en trouver d'autres à action contraire, favorable à l'organisme, les *produits vaccinants*, de même origine microbienne que les premiers, de même nature qu'eux probablement, bien qu'on ait encore peu de certain à ce sujet. Nous retrouverons plus loin ces produits vaccinants en parlant de l'immunité et de la vaccination.

Les recherches d'Arloing, Courmont et Rodet, Roger, démontrent qu'il existe une troisième classe de produits sécrétés par les microbes, agissant comme les premières toxines dans un sens favorable au microbe, en imprimant à l'organisme dans lequel ils sont introduits une véritable prédisposition à l'invasion par ce microbe. Ces *produits solubles prédisposants* (2) n'ont pas par eux-mêmes d'action nuisible bien marquée, ce qui les distingue d'emblée des toxines, mais ils préparent l'organisme à subir l'effet des produits toxiques du même microbe ou l'y rendent beaucoup plus sensible. Parfois l'introduction simultanée des deux sortes de produits, toxines et substances prédisposantes, ne détermine pas d'effets marqués; il faut aux produits prédisposants un certain temps pour influencer l'organisme, leur action est alors durable; c'est ce que Courmont a observé pour le *Bacille de la tuberculose*, le *Staphylocoque pyogène*, le *Streptocoque pyogène*. D'autres fois, leur action est immédiate, mais passagère: chez le *Bacille pyocyanique*, le *Bacille du charbon symptomatique*, par exemple.

Ces produits prédisposants peuvent agir en s'opposant à la diapédèse et par conséquent à la phagocytose, comme Charrin et Gley l'ont prouvé pour le *Bacille pyocyanique*; ou, au contraire, en excitant le système vaso-dilatateur, attirant les leucocytes en un point où se forme alors un abcès, comme Arloing le remarque avec le *Staphylocoque pyogène*. Nous retrouverons encore une autre explication de cette action des produits prédisposants en parlant de la *chimiotaxie*.

On connaît bien peu de choses sur les conditions de formation de ces produits vaccinants ou prédisposants. Leur production semble être en rapports intimes avec les conditions de vie du microbe. Ainsi, d'après Courmont, le *Bacille de la tuberculose* fabrique des produits vaccinants et prédisposants; les premiers domineraient dans les cultures, les seconds seraient plus abondants dans l'organisme infecté.

(1) Charrin et Levaditi, Modifications des toxines introduites dans le tube digestif (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 9 janvier 1899).

(2) Courmont, Étude sur les substances solubles prédisposant à l'action pathogène de leurs microbes producteurs (*Revue de méd.*, 1891, p. 842).

Il est cependant des espèces où, jusqu'ici, l'on n'est pas encore parvenu à découvrir la formation de tels produits actifs, toxiques ou autres; elles paraissent n'agir que d'une façon mécanique, en provoquant peut-être simplement par leur présence une irritation des tissus. C'est ce qui ressort des travaux de Kotliar et de Rénon (1) sur une Moisissure pathogène, l'*Aspergillus fumigatus*, cause d'une pseudo-tuberculose; c'est ce qui paraît admissible pour certains *Cladothrix*, pour l'*Actinomyces*, pour prendre des exemples parmi les Bactéries. L'action produite peut être due à une dénutrition provoquée par la soustraction de principes nutritifs ou d'oxygène, ou à une simple irritation, aboutissant à une prolifération de certains éléments cellulaires, à la formation de néoplasies, comme dans les lésions de l'*Actinomycose* que l'on a longtemps considérées comme une variété de sarcome.

L'organisme, dans l'infection, est loin de se laisser envahir comme un milieu inerte, une culture; il se défend au contraire de son mieux; il y a lutte véritable entre les cellules et les Bactéries (2). Souvent, c'est le parasite qui cède, il y a guérison; quand il l'emporte, il y a maladie et parfois mort.

Pasteur et son école voyaient, dans la victoire de l'organisme envahi, le résultat de sa *résistance vitale*, ou d'une non-appropriation du terrain au développement du germe ensemencé.

Cette *défense de l'organisme* consiste dans la mise en jeu d'activités fonctionnelles qui lui sont propres. Parmi ces activités, la plupart sont des propriétés générales, véritables *fonctions de défense* employées par l'organisme pour résister à toute cause nocive, de quelque nature qu'elle soit, corps étranger nuisible, toxique chimique, virus non vivant, aussi bien qu'être vivant. D'autres, dont, il est vrai, le nombre se réduit de jour en jour, paraissent dirigées directement contre l'action microbienne elle-même et ne se forment dès lors que sous l'influence de la présence du microbe ou de ses produits. Dans le premier cas, ce qui apparaît de suite comme important, c'est la mise en jeu directe des éléments cellulaires vivants eux-mêmes; dans le second, c'est l'action de produits particuliers qui peuvent être considérés comme de véritables *sécrétions de défense*. Il est vrai qu'il existe entre les deux un lien intime, ces sécrétions provenant des mêmes éléments cellulaires qui interviennent directement en premier. On a, suivant le cas, attribué plus ou moins d'importance à ces facteurs.

Pour Metschnikoff (3), le rôle de la défense de tout organisme est dévolu aux éléments cellulaires capables d'englober des solides. Il les nomme *phagocytes*. Deux espèces de cellules ont cette propriété. Ce sont d'abord les cellules capables de migration, les globules blancs, les leucocytes à noyau multiple ou lobé, les *microphages*, comme il les nomme; les *macrophages* sont des éléments fixes, n'émigrant pas à la recherche des Bactéries à absorber comme les précédents, mais les consommant sur place lorsqu'elles arrivent à leur contact. Telles sont les cellules de la rate, les cellules épithéliales des alvéoles pulmonaires, les

(1) Rénon, Aspergillose intestinale (*Soc. de Biol.*, 11 janvier 1896).

(2) Virchow, Der Kampf der Zellen und Bacterien (*Virchow's Arch.*, CI).

(3) Metschnikoff, Ueber die Beziehung der Phagocyten zu Milzbrandbacillen (*Virchow's Arch.*, 1884, p. 502), et Théorie des phagocytes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, nº 7, p. 321).

cellules fixes du tisu conjonctif. Pour l'auteur de cette théorie, les phagocytes se rassemblent autour des Bactéries et aussi bien de tout corps étranger introduit dans l'économie. Si le corps est volumineux et inattaquable par eux, ils l'entourent, par transformation directe, d'une membrane conjonctive qui se trouve constamment. S'ils ont affaire à des Bactéries, ils les absorbent, parfois en quantité telle que certains en paraissent remplis. Les éléments englobés changent d'aspect, perdent leur aptitude à fixer les couleurs, meurent et se divisent en fragments irréguliers, après un séjour quelque peu prolongé; ils sont *digérés* par les phagocytes. Lorsque ceux-ci réussissent à absorber la totalité des premiers, l'organisme l'emporte; s'ils ne peuvent y arriver, il est vaincu.

Le fait essentiel, de beaucoup le plus important, est ici la sortie des globules blancs des espaces où ils sont naturellement enfermés. C'est une diapédèse pathologique, une leucocytose provoquée par l'irritation des tissus où elle s'opère (1). Cette irritation peut être causée par la seule présence de l'agent infectieux; ou les produits solubles qu'il sécrète déterminent ou favorisent la diapédèse par leur action vaso-dilatatrice.

La plupart des globules blancs paraissent posséder à un haut degré ce pouvoir phagocytaire; on l'observe chez les leucocytes polynucléaires neutrophiles et les leucocytes mononucléaires. Les leucocytes éosinophiles et les cellules d'Ehrlich basophiles n'ont, au contraire, semble-t-il, aucune action. Les leucocytes mononucléaires, cependant, n'englobent ni les *Streptocoques de l'érysipèle* ni les *Gonocoques* qu'englobent facilement les neutrophiles; d'un autre côté, les *Bacilles de la lèpre* ne sont jamais pris par les neutrophiles, facilement, au contraire, par les mononucléaires.

Lorsque, pour une cause quelconque, cette diapédèse et cette action phagocytaire sont entravées, la résistance de l'organisme est vaincue, il peut être envahi par le microbe. Cette action contraire peut provenir des conditions du milieu extérieur; c'est probablement ainsi que le froid est une véritable cause déterminante de certaines maladies infectieuses, pneumonie, pleurésie par exemple, dont il n'introduit pourtant pas le microbe dans l'organisme. L'agent infectieux existe là très souvent, à l'état normal, à la surface de la muqueuse respiratoire, arrêté par les cellules épithéliales d'abord, puis, s'il parvient à les traverser, par les nombreux éléments lymphatiques de la couche sous-muqueuse; le froid n'a qu'à troubler la série des actes de ces éléments pour qu'ils ne suffisent plus à leur rôle de protection. Cette même action peut en outre être provoquée par des sécrétions mêmes de la Bactérie. C'est ce que démontre l'aggravation de la maladie, reconnue par Bouchard pour le charbon, la maladie pyocyanique, l'infection purulente, le choléra des poules, après injection de produits solubles des cultures de ces microbes à des animaux inoculés antérieurement. Des expériences de Charrin et Gley (2), il ressort que ces produits solubles, pour le *Bacille du pus bleu*, entravent la diapédèse en paralysant les nerfs vaso-dilatateurs; la diapédèse, nécessitant une dilatation vasculaire active, ne peut plus se produire.

(1) Bouchard, Essai d'une théorie de l'infection (*Congrès de Berlin*, 1890).
(2) Charrin et Gley, *in* Charrin, La maladie pyocyanique, 1889.

Un effet analogue peut être produit, pour une maladie donnée, par des produits de sécrétion de Bactéries autres que celle qui la produit, voire même par des espèces ordinairement inoffensives. C'est ainsi que Roger a observé que l'injection de produits solubles du *Micrococcus prodigiosus* rendait possible, chez le lapin, le développement du charbon symptomatique, auquel il est réfractaire dans les conditions ordinaires; Monti (1) a observé des faits semblables pour d'autres espèces pathogènes.

Nul doute que l'on n'obtienne le même résultat avec des substances chimiques ou médicamenteuses agissant dans le même sens sur la diapédèse; c'est une voie nouvelle ouverte à la thérapeutique des maladies infectieuses.

Ce qui peut renseigner peut-être sur la façon dont se passe le phénomène de l'afflux des leucocytes aux endroits où leur présence est nécessaire, c'est une curieuse propriété de ces éléments, mise en lumière par Pfeffer (2) qui lui a donné le nom de *chimiotaxie*. Les leucocytes, comme le font du reste un grand nombre d'organismes inférieurs unicellulaires végétaux et animaux, possèdent une propriété spéciale, sorte d'attraction, qui se manifeste par leur mouvement vers certaines substances exerçant sur eux une action, probablement chimique, encore indéterminée: c'est la *chimiotaxie positive*. D'autres substances, au contraire, exercent sur ces mêmes éléments une véritable action répulsive qui les fait chercher à s'en éloigner: c'est la *chimiotaxie négative*.

Cette chimiotaxie est une propriété que semble posséder, du reste, tout être ou tout élément vivant. C'est elle qui attire, par exemple, autour d'Algues mortes dans l'eau, des espèces déterminées d'êtres inférieurs que l'on voit ainsi se condenser autour d'elles. Les Bactéries elles-mêmes sont chimiotaxiques; nous en avons déjà eu une preuve très nette précédemment (p. 38), en voyant qu'elles étaient rapidement attirées par l'oxygène. Ali Cohen (3) a même proposé d'utiliser cette propriété dans la recherche de certaines espèces dans un mélange, celles qui sont particulièrement attirées par certaines substances se condensent autour d'elles; c'est ainsi que le suc de pomme de terre riche en potasse et en asparagine, substances douées de chimiotaxie positive à un haut degré, attire surtout, dans un mélange, les *Bacilles typhiques* et les *Spirilles du choléra*.

Les leucocytes sont tout spécialement attirés par les produits solubles sécrétés par certaines Bactéries pathogènes, qui se nuisent ainsi directement à elles-mêmes en favorisant à un haut point la diapédèse et conséquemment la phagocytose. C'est ce qu'ont démontré Massart et Bordet (4), dans des recherches très originales. Ils se servent de tubes capillaires fermés à une extrémité et contenant des cultures pures de Bactéries pathogènes, qu'ils placent dans la cavité abdominale de

(1) Monti, Influenza dei prodotti tossici dei saprofyti sulla restituzione della virulenza ai microparassiti attenuati (*Acc. dei Lincei*, 1889, II, n° 7).

(2) Pfeffer, Ueber chemotactische Bewegung von Bacterien, Flagellaten und Volvocinen (*Unters. a. d. bot. Inst. in Tubingen*, 1887, p. 582).

(3) Ali Cohen, Die Chemotaxis als Hülfsmittel der bacteriologischen Forschung (*Centralbl. für Bakt.*, VIII, 1882, p. 161).

(4) Massart et Bordet, Recherches sur l'irritabilité des leucocytes (*Soc. roy. des sc. nat. et méd. de Bruxelles*, 1890).

grenouilles où ils les laissent séjourner vingt-quatre heures. Ces tubes déterminent autour d'eux et à leur intérieur un appel considérable de leucocytes, s'appliquant surtout contre la paroi interne, formant même parfois de si gros amas qu'ils obturent complètement la lumière du tube. Cet afflux rapide des leucocytes est empêché par l'anesthésie qui arrête la diapédèse. Les auteurs cités ont expérimenté sur le *Micrococcus pyogenes albus*, le *Bacille du choléra des poules*, le *Bacille typhique*, le *Bacille du charbon*, qui ont donné des résultats évidents.

Gabritchevsky (1) a obtenu de semblables résultats avec le lapin. La plupart des cultures bactériennes ont manifesté de la chimiotaxie positive. Il en faut conclure que les Bactéries sont des excitants spécifiques des leucocytes, qui sont attirés à grande distance par la diffusion de très petites quantités de produits solubles sécrétés par elles. C'est un des facteurs puissants de la phagocytose.

Cette théorie des phagocytes, très simple, est basée sur des faits d'observation indéniables, l'absorption des Bactéries par certaines cellules, particulièrement les éléments amiboïdes. Ces faits cependant peuvent recevoir une tout autre interprétation et, de plus, se trouvent en contradiction avec certains résultats expérimentaux. Toute cellule dépourvue de membrane englobe les granulations qui sont à sa portée, qu'elles soient alimentaires ou non. Des *Amibes*, observées dans l'eau, absorbent souvent des Bactéries qui sont en suspension dans le liquide, ou des autres êtres inférieurs de plus grande taille. Rien d'étonnant que les globules blancs, qui ressemblent tant aux amibes, agissent comme elles. Cependant, nous avons vu que les leucocytes éosinophiles et basophiles, bien que mobiles, n'englobaient jamais rien et ne devaient, par conséquent, jouer aucun rôle phagocytaire. L'augmentation des globules blancs du sang dans les maladies infectieuses a été signalée par beaucoup d'observateurs, en particulier par Brauel dans le charbon (2) et par Coze et Feltz dans la septicémie (3), sans que jamais ces éléments aient paru se charger des parasites. D'après Koch (4) même, les Bactéries de la septicémie de la souris se voient très fréquemment dans les globules blancs, mais ne disparaissent pas et ne semblent perdre aucun de leurs caractères. S'ils étaient réellement *phagocytes*, pourquoi ces éléments le seraient-ils à un bien plus haut degré chez la souris des champs, qui ne peut contracter la maladie, que chez la souris des maisons, dont elle cause rapidement la mort? Comment les leucocytes de la poule pourraient-ils absorber plus vite les Bactéries du charbon à 40° qu'à 30°? Comment ceux de la grenouille, très avides de ces mêmes Bactéries à basse température, perdraient-ils la propriété de les digérer à 25°? La théorie phagocytaire n'est pas encore parvenue à élucider tous ces points obscurs. Wyssokowitch, de son côté, dans ses expériences qui viennent d'être citées, assure n'avoir jamais rencontré de Bactéries dans les leucocytes, après injection de

(1) GABRITCHEVSKY, Sur les propriétés chimiotaxiques des leucocytes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1890, p. 346).

(2) BRAUEL, Versuche und Untersuchungen betreffend den Milzbrand (*Virchow's Arch.*, XI, 1857, p. 131).

(3) COZE et FELTZ, Recherches cliniques et expérimentales sur les maladies infectieuses, 1872.

(4) KOCH, Wundinfectionskrankheiten, 1876.

quantités considérables de saprophytes dans le sang, alors qu'ils en devraient contenir un grand nombre, puisque la disparition en est si rapide.

A côté de ce mode de défense de l'organisme, où des éléments cellulaires sont directement actifs, il en existe un autre, moins important peut-être et surtout moins général, basé sur une non-adaptation des humeurs de l'organisme à la vie des Bactéries. Ces humeurs possèdent souvent, les plus importantes au moins, des *propriétés bactéricides* très marquées. Nuttall (1) a découvert ce fait pour le sang, dans des expériences instituées pour étudier l'action des globules blancs sur les Bactéries, particulièrement au point de vue de la phagocytose. Il a remarqué qu'avant d'être attaquées par les phagocytes, les Bactéries ont déjà subi une altération manifeste sous l'influence des liquides de l'organisme. Pour lui, c'est à ces liquides, sang et lymphe surtout, qu'il faut attribuer le rôle principal dans la défense de l'organisme contre l'invasion des Bactéries.

Ce fait concorde du reste avec des observations de Fodor, signalées plus haut (p. 97), d'après lesquelles les Bactéries pathogènes, introduites à doses modérées dans le sang, se raréfient, disparaissent quelques heures après l'injection dans ce liquide, qui n'est alors ni fertile ni contagieux, et ne se retrouvent que dans certains viscères.

Büchner (2), reprenant les expériences de Nuttall, en confirme les résultats et signale des points nouveaux d'un haut intérêt. En opérant sur du sang de lapin et de chien, il ensemence de ce liquide, recueilli aseptiquement et défibriné par agitation avec de petites perles de verre, avec du *Bacille du charbon* ou du *Bacille du rouget du porc*; puis, il fait des numérations au moyen de cultures sur plaques aussitôt après l'ensemencement d'abord, puis quelque temps après, à des moments divers. Les Bactéries diminuent rapidement, surtout lorsque la dose ensemencée n'est pas très grande. Avec le *Bacille du charbon*, dans une expérience, la première numération, faite aussitôt après l'ensemencement, donne sur la plaque un total de 2 678 colonies ; une deuxième numération, faite dans les mêmes conditions deux heures après, n'en donne plus que 36 ; une troisième, faite après cinq heures et demie, n'en donne plus que 6. Lorsque la quantité de Bactéries ensemencées est beaucoup plus forte, on observe quand même une diminution, mais moindre; de plus, le chiffre s'élève vite. Dans une observation, la numération faite aussitôt l'ensemencement donne 15 105 colonies; une deuxième, après deux heures, 492 ; la troisième, après cinq heures et demie, 931. La température influe rapidement sur cette action bactéricide; du sang chauffé pendant une heure à 55° perd toute action. L'âge du sang hors de l'organisme influe moins ; du sang conservé pendant sept jours à une température basse de 6°-8° ne perd pas sa propriété bactéricide, mais devient moins actif. Pour Büchner, cette propriété bactéricide résiderait d'une façon certaine dans le sérum, les éléments figurés du sang n'y contribuant en rien ; elle serait inhérente aux albumines du sérum et due, non pas à une substance organique diffusible, mais à un état moléculaire.

(1) Nuttall, Experimente über die bacterienfeindlichen Einfluss der thierischein Körpers (*Zeitschr. für Hygiene*, IV, 1888, p. 353).

(2) Buchner, Ueber bacterientodtende Wirkung der zellenfreien Blutserum (*Centralbl. für Bakt.*, V, 1889, p. 817, et VI, p. 1).

Ses recherches suivantes (1) lui ont fait voir que c'était bien un corps dissous dans le liquide; il lui a donné le nom d'*alexine*.

Les recherches de Denys et Havet (2) sur le pouvoir bactéricide du sang de chien démontrent que le sérum n'a que la plus petite part dans le pouvoir bactéricide du sang, la plus grande devant revenir aux leucocytes. Ce seraient ces éléments qui produiraient, dans des conditions déterminées, sous certaines influences, une substance active. Cette conclusion a encore été confirmée par les recherches de Löwitt (3), de Schattenfroh (4), de Beretzka (5), de Daübler (6), etc. D'après Ogata (7), cette *substance bactéricide* est insoluble dans l'alcool et l'éther, soluble dans l'eau et la glycérine; en solution glycérinée, elle conserve très longtemps son activité, que détruit un chauffage à 45°; c'est encore un produit voisin des diastases.

La résistance des différentes Bactéries au pouvoir destructeur du sang peut être très variable. Dans les expériences de Büchner, le *Bacille du pus bleu* s'est montré le plus résistant; le *Bacille typhique*, le *Spirille du choléra*, le *Bacillus coli communis*, ont été particulièrement sensibles; le *Bacille du charbon*, le *Bacille du rouget du porc*, sont influencés d'une façon intermédiaire.

Le sang de divers animaux montre des différences très grandes. Tandis que le sérum du sang d'homme, de chien, de lapin, de poule, de pigeon, est très actif, celui du cheval et du bœuf ne possède aucune action bactéricide. Il y a même plus, l'action bactéricide du sang peut varier dans la même espèce d'un individu à l'autre ; ce qui peut expliquer certaines prédispositions. Il ne paraît du reste pas exister de rapport immédiat entre l'action bactéricide du sang d'un animal donné et la facilité avec laquelle il est infesté par une Bactérie pathogène ou lui résiste. Le sang d'animaux réfractaires à un microbe peut être un bon milieu de culture pour ce microbe; et, inversement, le sang d'animaux non réfractaires à un microbe peut être doué de propriétés bactéricides très énergiques pour ce même microbe. Ces rapports peuvent toutefois être modifiés par certains procédés, en particulier par la vaccination; c'est une des raisons les plus plausibles de l'immunité acquise après vaccination. En somme, cette propriété bactéricide du sang paraît surtout dépendre d'un état spécial des leucocytes, pouvant ne se manifester que sous des influences déterminées, peut-être sous l'influence d'excitations causées par la présence de produits solubles d'origine microbienne.

Quant à la puissance bactéricide du sang d'une espèce animale pour une Bactérie donnée, il faudra de nombreuses expériences pour la

(1) Buchner, *Münch. med. Wochenschr.*, 1891, p. 437; 1894; 1897, p. 300.

(2) Denys et Havet, Sur la part des leucocytes dans le pouvoir bactéricide du sang de chien (*La Cellule*, X, 1893).

(3) Löwit, Ueber bactericide Leucocytenstoffe (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 1025).

(4) Schattenfroh, Mittheilungen über die bactericiden Leucocytenstoffe (*Münch. med. Wochenschr.*, 1897, n° 16, p. 414). — Ueber die bakterienfeindlichen Eigenschaften der Leucocyten (*Arch. für Hygiene*, XXXI, 1897, p. 1).

(5) Beretzka, Du pouvoir bactéricide des leucocytes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 607).

(6) Daübler, Ueber die baktericide Kraft der Leucocytenstoffe (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 129).

(7) Ogata, Ueber die bakterienfeindliche Substanz des Blutes (*Centralbl. für Bakt.*, X, 1891, p. 597).

déterminer avec une approximation suffisante. D'après Büchner, un millimètre cube de sang de lapin peut détruire environ un millier de *Bacilles typhiques*. Nissen (1) a étudié l'action nocive du sang sur un grand nombre d'espèces de Bactéries; il a constaté que cette action varie considérablement suivant l'espèce. En injectant de fortes quantités d'une espèce inoffensive, le *Micrococcus aqualilis* par exemple, le sang perd une grande partie de son pouvoir bactéricide; du produit de culture filtré sur un filtre Chamberland n'affaiblit jamais l'action du sang. L'affaiblissement ne provient donc pas d'un apport de produits solubles, mais nécessite la présence des microbes vivants.

Les recherches de Fodor (2) sont venues confirmer et étendre les résultats précédemment énoncés. Il annonce que le sang artériel a une action bactéricide plus marquée que le sang veineux; que l'action bactéricide augmente avec la température, présente un optimum vers 38°-40° et diminue rapidement au-dessus; qu'elle ne varie pas quand on a extrait du sang les gaz qu'il contient, mais diminue dans une atmosphère d'oxygène ou d'acide carbonique, et manque complètement au sang de lapins empoisonnés avec l'oxyde de carbone. De plus, fait important, il trouve que l'alcalinisation du sang augmente notablement ses qualités bactéricides. Parmi les sels dont l'injection exalte surtout cette propriété se trouvent en première ligne le carbonate de soude et le phosphate de soude, à la dose de 3 à 5 grammes pour le lapin; après le carbonate de soude, à la même dose et bien au-dessous, le chlorure de sodium et le carbonate d'ammonium, à peu près également actifs. En appliquant pratiquement ces résultats à des lapins auxquels il inoculait le charbon, Fodor a pu obtenir une immunité partielle bien évidente dans plusieurs cas, totale dans quelques-uns.

D'après Pekelharing (3), le sang et la lymphe du lapin pourraient même détruire les spores si résistantes du *Bacille du charbon*.

Des humeurs autres que le sang et la lymphe possèdent des propriétés bactéricides bien marquées; ceci se conçoit facilement d'après l'origine cellulaire des produits bactéricides. L'urine, d'après Lehmann (4), aurait une action évidente sur les cultures de charbon et de choléra, moindre sur celles de *Bacille typhique*. Cette action paraît due à la présence des phosphates acides dans l'urine; des solutions de phosphate acide de potasse agissent dans le même sens. Würtz (5) a reconnu au blanc d'œuf cette même propriété bactéricide; Fokker (6) l'a signalée pour le lait; les mucus nasal, buccal, vaginal, utérin, agissent dans le même sens.

London (7) a signalé la diminution des propriétés bactéricides du sang

(1) Nissen, Zur Kenntniss der Bacterien vernichtenden Eigenschaft des Blutes (*Zeitschr. für Hygiene*, VI, 1889, p. 487).

(2) Fodor, Neue Untersuchungen über bacterientodtende Wirkung des Blutes und über Immunisation (*Centralbl. für Bakt.*, VII, 1890, p. 753).

(3) Pekelharing, La propriété bactéricide du sang (*Sem. méd.*, 1892, n° 63).

(4) Lehmann, Ueber die pilztödtende Wirkung des frischen Harns des gesunden Menschen, VII, 1890, p. 457.

(5) R. Wurtz, De l'action bactéricide du blanc d'œuf (*Sem. méd.*, 1890, n° 3).

(6) Fokker, Onderzœkigen nover melkyzuugisting (*Weckblad van hed nederl. Tijdschrift van Geneeskunde*, I, II, 1890).

(7) London, Influence de certains agents pathologiques sur les propriétés bactéricides du sang (*Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, V, 1897, p. 88).

de pigeon et de lapin à l'égard du *Bacille du charbon*, lorsque les animaux étaient soumis à des influences défavorables, telles que le jeûne, la gène respiratoire, l'excitation des nerfs sensibles, l'état urémique.

Les différents organes paraissent avoir, au point de vue de l'infection, un rôle des plus importants. Ceux dont l'influence est la plus manifeste sont les plus riches en réseaux vasculaires, probablement parce que les microbes introduits dans la circulation s'arrêtent dans le premier réseau capillaire qu'ils rencontrent et subissent alors plus facilement et plus longtemps l'action de l'organe où ils se trouvent.

L'effet produit varie beaucoup suivant l'organe et aussi suivant le microbe. Il est encore difficile d'énoncer des règles générales sur ce point.

L'agent infectieux peut arriver par la voie lymphatique ou par la voie sanguine ; il rencontre, suivant les cas, des organes bien différents.

Les *ganglions lymphatiques* paraissent avoir, à l'égard de l'organisme, un rôle de protection des plus importants (1). Ce sont réellement des organes d'arrêt pour les microbes ou leurs produits. Les microbes peuvent y séjourner longtemps, leur destruction s'y faisant lentement; ils peuvent passer au delà, l'expérience démontre alors que leur virulence est notablement diminuée ; ils peuvent y vivre, s'y développer, mais les symptômes produits sont aussi modifiés, diminués : ainsi le *Bacille de Koch* y déterminant une tuberculose atténuée, la véritable scrofule. Ces ganglions sont le siège des mêmes phénomènes réactionnels que ceux qui ont été observés au début de l'infection, au point d'inoculation, congestion, leucocytose, diapédèse ; ils réagissent comme tout l'organisme ; c'est en somme ici aussi la phagocytose qui est le grand facteur.

Le rôle de la *rate* est plus obscur (2). On observe de grandes différences suivant les infections. Cet organe paraît être tantôt utile, tantôt nuisible à la défense, très probablement suivant la nature des produits qu'il sécrète. Dans bien des expériences, l'extirpation de la rate, ou la ligature de son pédicule vasculaire, atténue la gravité des infections microbiennes ; son action paraît donc plutôt défavorable dans l'infection. Par contre, l'organe ne paraît avoir aucune action sur les toxines introduites dans le sang.

La *moelle osseuse*, où se produisent en quantité les leucocytes polynucléaires, serait un des organes de défense les plus importants.

L'*appareil digestif* a aussi un rôle protecteur. L'estomac agit nettement dans ce sens, d'abord par l'acidité du suc gastrique qui paraît bien entrer en ligne de compte, quoi qu'on en dise. L'intestin met en jeu l'action de l'épithélium de la muqueuse et ses sécrétions. De plus, l'estomac et l'intestin agissent sur les toxines en les détruisant ou en les atténuant (3).

L'action protectrice du *foie* paraît bien évidente. Les expériences de Roger démontrent qu'il arrête et détruit certains microbes, le *Bacille*

(1) PEREZ, Ueber das Verhalten des Lymphdrüsensystems den Mikroorganismen gegenüber (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 404). — BESANÇON et LABBÉ, Du rôle du ganglion dans les maladies infectieuses (*Arch. de méd. expér.*, 1898, p. 318).

(2) COURMONT et DUFFAU, Du rôle de la rate dans les infections (*Arch. de méd. expér.*, 1898, p. 430). — BLUMREICH et JACOBI, Ueber die Bedeutung der Milz bei Künstlichen und natürlichen Infectionen (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIX, 1898, p. 419).

(3) CHARRIN, Action des sucs digestifs sur les toxines (*Soc. de Biol.*, 30 juillet 1898). Voy. aussi p. 99.

du charbon et le *Staphylocoque doré*; par contre, il favoriserait le *Streptocoque*. Le jeûne et la mauvaise alimentation diminuent le rôle protecteur (1).

La sécrétion du *pancréas* atténue notablement les toxines, d'après Charrin (2).

Le *poumon* a une action protectrice marquée à l'égard du Streptocoque, d'après Roger (3).

Les organes d'élimination jouent aussi un grand rôle dans la défense. Le *rein* vient en première ligne. Son importance est absolument démontrée par les désordres observés à la suite de la rétention des poisons urinaires d'origine microbienne évidente. L'élimination des Bactéries pathogènes par le rein est démontrée depuis longtemps. Petruschky (4) fait jouer au rein, dans la fièvre typhoïde, le rôle prédominant pour l'élimination bacillaire; Bield et Kraus (5) lui reconnaissent aussi un grand rôle pour d'autres infections, alors qu'ils n'ont rien observé pour les glandes salivaires et le pancréas. Toutefois, le rein normal paraît bien ne pas laisser passer de microbes; le passage ne se fait qu'à la suite de lésions pathologiques de l'organe (6).

Kriklivy (7) n'a rien obtenu pour la *sueur* avec le *Bacille du charbon*.

Le degré de résistance à un même parasite peut varier dans des limites très larges suivant l'espèce, la variété, la force de l'individu ou simplement son âge. Ainsi, on voit la souris des champs résister à une septicémie qui tue la souris de maison, bien voisine d'elle cependant. Un exemple plus frappant encore est offert par la résistance au charbon d'une race de moutons d'Algérie, les moutons *barbarins*, ne différant en rien de leurs congénères d'Europe (8). L'âge est un des facteurs dont l'influence est le plus manifeste : le chien, très sensible au charbon lorsqu'il est jeune, devient rapidement réfractaire avec l'âge. Bien des cultures atténuées de Bactéries pathogènes, sans action sur les animaux adultes, en gardent une très manifeste sur les jeunes, et d'autant plus forte qu'ils sont moins âgés. La raison de la résistance de ces organismes n'est guère connue. Elle tient peut-être à l'état du sang qui, plus riche, pourrait soutenir plus longtemps la lutte. D'après P. Bert (9), le sang des animaux originaires des hauts lieux présente une capacité d'absorption pour l'oxygène bien supérieure à celle des animaux des

(1) Roger, Action des organes sur les microbes (*Soc. de Biol.*, 12 mars 1898). — De l'action protectrice du foie (*Ibid.*, 15 octobre 1898). — Roger et Garnier, Influence du jeûne et de l'alimentation sur le rôle protecteur du foie (*Ibid.*, 18 mars 1899).

(2) Charrin, Action du pancréas sur les toxines (*Soc. de Biol.*, 18 mars 1899).

(3) Roger, Sur le rôle protecteur du poumon contre l'infection streptococcique (*Soc. de Biol.*, 23 octobre 1897).

(4) Petruschky, Ueber Massenausscheidung von Typhusbacillen durch den Urin von Typhus Rekonvalescenten und die epidemiologische Bedeutung dieser Thatsache (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, n° 577).

(5) Bield et Kraus, Ueber die Auscheidung der Mikroorganismen durch drüsige Organen (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVI, 1897, p. 353).

(6) Opitz, Beiträge zur Frage der Durchgängigkeit von Darm und Nieren für Bakterien (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIX, 1898, p. 505).

(7) Kriklivy, Sur l'élimination des microorganismes pathogènes par la sueur (*Wratsch*, 1897, n° 8).

(8) Chauveau, De la prédisposition et de l'immunité pathologiques (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXIX, 1879, p. 498).

(9) P. Bert, *C. R. de l'Acad. des sc.*, XCIV, 1882, p. 805.

régions basses. C'est peut-être cette forte proportion d'oxygène qui permet aux moutons barbarins de résister si complètement à l'invasion de la Bactérie charbonneuse. La différence dans l'action bactéricide des humeurs peut jouer un rôle.

On doit encore ranger parmi les substances produites par les éléments de l'organisme pour réagir contre l'invasion microbienne, les corps désignés sous les noms d'*antitoxines* et de *substances agglutinantes* ou *agglutinines*.

Les *antitoxines* paraissent bien aujourd'hui être formées directement par les éléments vivants de l'organisme, surtout les leucocytes, pour résister à l'intoxication par certaines substances et principalement les substances toxiques formées par les microbes. L'organisme peut toutefois produire des antitoxines sous l'influence de toxines autres que les toxines microbiennes; ainsi pour l'abrine du jéquirity, la ricine du ricin (1), les toxines de champignons vénéneux, les toxines du venin de serpent (2), du sang de l'anguille (3). La formation d'antitoxines paraît donc aussi être un procédé général de défense contre toute une catégorie de toxiques et non pas, comme on l'a cru longtemps, une fonction dirigée spécialement contre les éléments microbiens. Toutefois, les antitoxines ne paraissent bien être formées que sous l'influence de l'irritation causée par la toxine, et dans le cas particulier la toxine microbienne; c'est probablement la manière dont l'élément vivant atténue ou détruit la toxine, sécrétant un produit spécial dont l'effet est de neutraliser les effets de la toxine. Il sera encore parlé plus loin de ces antitoxines à propos de la question de l'immunité.

Le phénomène de l'*agglutination* doit être aussi considéré comme un moyen de défense. Dans ces derniers temps, on a beaucoup discuté sur sa véritable nature; il paraît raisonnable d'adopter l'opinion de Duclaux (4), qui en fait un simple phénomène de coagulation. La définition qu'en donne Bordet (5) est très acceptable : « Le terme de *phénomène de l'agglutination* désigne habituellement ce fait que, sous l'influence du sérum spécifique, les microbes en suspension homogène dans un liquide, tel que le bouillon ou la solution de chlorure de sodium à 7 p. 1 000, se réunissent en flocons qui bientôt se déposent au fond du vase. »

Le corps des microbes, probablement la membrane, renferme une substance particulière, peut-être de nature albuminoïde, la *substance agglutinable* ou *substance agglutinée* de Nicolle (6), qui, sous certaines influences, se coagule, réunissant ainsi, en les accolant, un nombre plus ou moins considérable d'éléments microbiens; il se forme ainsi, lorsqu'on se sert des liquides précités, des amas ou flocons, qui s'aperçoivent

(1) Ehrlich, Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung (*Fortschr. der Med.*, 1897, n° 2, p. 41). — Calmette et Déléarde, Sur les toxines non microbiennes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 675).

(2) Calmette, Sur le venin des serpents (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 275; IX, 1895, p. 225; XI, 1897, p. 214).

(3) Héricourt et Richet, Sérothérapie *in vitro* dans l'intoxication par le sang d'anguille (*Soc. de Biol.*, 10 avril 1897).

(4) Duclaux, Traité de microbiologie, t. II, p. 706.

(5) Bordet, Le mécanisme de l'agglutination (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1898, p. 225).

(6) Nicolle, Recherches sur la substance agglutinée (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 161).

nettement et donnent un aspect bien différent de l'aspect ordinaire d'émulsion homogène.

Toutefois, l'agglutination est une propriété générale de l'organisme qui n'est pas seulement dirigée contre les microbes. Bordet (1) a montré qu'à la suite d'injections de sérum défibriné à des animaux, le sang de ces derniers acquérait un pouvoir agglutinant très marqué à l'égard des globules rouges de l'espèce animale ayant fourni le premier sérum; d'autres substances donneront aussi des résultats de même ordre.

Cette substance agglutinable s'agglutine, ou se coagule pour employer le terme de Duclaux, sous diverses influences, produisant ainsi le phénomène en question. Au premier rang de ces influences se place celle d'une substance spéciale, ferment diastasique très probablement, que les éléments vivants de l'organisme produisent, sous l'incitation des toxiques microbiens; on lui a donné le nom d'*agglutinine* (2). Donc, parmi les produits donnant cette réaction, se trouvent de suite les sérums spécifiques provenant d'animaux soumis aux injections de toxines formées par les microbes en question. Mais, l'agglutination des microbes peut aussi être provoquée par d'autres moyens; Malvoz (3) a montré que l'aldéhyde formique, le sublimé, l'eau oxygénée, le sulfate d'ammoniaque, les acides acétique et lactique dilués, la safranine, la vésuvine et la fuchsine en solutions aqueuses bien filtrées, provoquaient, avec certains microbes au moins, une agglutination souvent aussi belle que celle obtenue avec le sérum spécifique; Blachstein (4) a observé le même fait, pour le *Vibrion cholérique*, avec la chrysoïdine. Toutefois, d'après Bossaert (5), le phénomène n'aurait ni la sensibilité ni la netteté qui se montrent avec les sérums spécifiques.

La propriété agglutinable qu'ont les microbes n'est cependant pas une propriété réellement vitale, puisque, comme Bordet l'a montré le premier (6), les microbes morts réagissent de cette façon aussi bien que les microbes vivants. Les cultures de *Bacille typhique* en particulier, tuées par la chaleur, l'addition de quelques gouttes de formol (7), le thymol, le chloroforme, l'acide phénique, le sublimé (8), sont très nettement agglutinées par le sérum de sujets en infection typhique.

La substance agglutinable peut diffuser du corps des microbes dans les bouillons de culture; Kraus a montré qu'on observait la formation

(1) Bordet, Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 688).

(2) Malvoz, Sur la présence d'agglutinines spécifiques dans les cultures microbiennes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1898, p. 630).

(3) Malvoz, Recherches sur l'agglutination du *Bacillus typhosus* par les substances chimiques (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 582).

(4) Engels, Ueber die Verwendbarkeit des Chrysoidins bei der Choleradiagnose (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 81).

(5) Bossaert, Étude sur l'agglutination comparée du vibrion cholérique et des microbes voisins par le sérum spécifique et les substances chimiques (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 857).

(6) Bordet, Sur le mode d'action des sérums préventifs (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 193).

(7) Widal et Sicard, La réaction agglutinante sur les Bacilles morts (*Soc. de Biol.*, 30 janvier 1897).

(8) Van de Velde, Influence de la chaleur, des sels, des métaux lourds et d'autres antiseptiques sur les cultures de Bacille typhique employées dans le séro-diagnostic de la fièvre typhoïde (*Acad. de méd. de Belgique*, 27 mars 1897, et *Sem. méd.*, 1897, nº 15, p. 114).

de grumeau dans les cultures de divers microbes privées par filtration des éléments vivants (1).

Le fait que les sérums spécifiques donnent au mieux cette réaction, l'avait fait considérer au début comme une véritable *réaction d'immunité* (2) ; les recherches de Widal (3) ont prouvé qu'il n'en était rien, car le phénomène existe pendant la période d'infection, et même plus marqué que dans la période d'immunité complète. C'est une véritable *réaction d'infection*; cette *séro-réaction* permet de faire le diagnostic pendant l'infection. La méthode qui l'applique, le *séro-diagnostic*, a déjà donné d'excellents résultats. A un point de vue général, elle est des plus précieuses pour la détermination exacte de bien des espèces. A un point de vue plus spécial, elle rend de grands services pour le diagnostic de certaines infections; elle a été étudiée surtout dans son application à la fièvre typhoïde (4). Des détails plus complets sur la manière d'agir seront donnés à propos de l'étude de diverses espèces microbiennes, et en particulier du *Bacille typhique*.

Il faut toutefois se souvenir que la réaction d'agglutination, produite à l'aide d'un sérum spécifique, n'est pas, elle, une réaction réellement spécifique. Un sérum donné peut la provoquer dans des cultures microbiennes autres que celles du microbe qui a servi à l'obtenir; certains sérums d'animaux normaux la produisent même sur des microbes déterminés; des produits chimiques précités la provoquent également chez plusieurs microbes. Pour s'en servir comme caractère de diagnose, il faut alors toujours l'employer dans des conditions déterminées qui permettront d'apprécier l'énergie de la réaction provoquée. Ces points seront examinés aux différents cas particuliers intéressants.

Il résulte de tout ceci que la résistance de l'organisme à l'invasion microbienne ne paraît pas due à un processus unique, phagocytose ou action bactéricide des humeurs. Ses moyens de défense sont multiples et consistent simplement dans la mise en jeu de ses activités propres. Il est même possible de simplifier cette conception ; en se basant sur ce fait que la phagocytose et le pouvoir bactéricide des humeurs dépendent surtout des globules blancs, on peut admettre que ce sont principalement les leucocytes qui sont les agents de défense de l'organisme. Leur action s'exerce à l'endroit voulu, où ils se trouvent, par la phagocytose; elle peut se faire sentir au loin par la diffusion de leurs sécrétions bactéricides. L'action des différents organes serait plutôt secondaire et dépendrait probablement de la leucocytose qui peut s'y opérer (5).

Dans un même organisme, il peut y avoir lutte entre des espèces différentes. D'habitude, l'une se développe plus vite et parvient à étouffer

(1) KRAUS, *Wiener klin. Wochenschr.*, 1897, n° 32, p. 736.

(2) PFEIFFER et KOLLE, Ueber die specifische Immunitäts reaction der Typhusbacillen (*Zeitschr. für Hygiene*, XXI, 1896, p. 203). — Weitere, Untersuchungen über die specifische Immunitätsreaction der Choleravibrionen im Thierkörper und Reagensglase (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 129).

(3) WIDAL, Séro-diagnostic de la fièvre typhoïde (*Soc. méd. des hôp.*, 26 juin 1896).

(4) WIDAL et SICARD, Études sur le séro-diagnostic et sur la réaction agglutinante chez les typhiques (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 353).

(5) WAUTERS, Sur la répartition des substances bactéricides dans les différents organes (*Arch. de méd. expér.*, X, 1898, p. 751).

ses voisines, ou tout au moins à diminuer et masquer leur action.

C'est, du reste, ce que l'on observe souvent dans les cultures où plusieurs espèces sont mélangées ou ensemencées ensemble intentionnellement; beaucoup de Bactéries exercent sur d'autres une action nuisible manifeste. Ce fait d'*antagonisme* a été signalé en premier lieu par Garré (1) qui, en expérimentant avec les cultures sur milieux solides, avait remarqué que le milieu, débarrassé par raclage de la culture, était devenu impropre à la vie d'autres Bactéries. Freudenreich (2) approfondit le même sujet en se servant, comme milieu de culture, de bouillon où il ensemençait une certaine espèce, attendait son développement complet, puis filtrait sur une bougie Chamberland; le liquide stérile lui servait alors à ensemencer d'autres espèces. Pour beaucoup d'espèces, le développement était nul ou faible; d'autres au contraire ne semblaient pas influencées. Soyka (3) a obtenu des résultats très semblables.

L'effet antagoniste semble être dû à des causes diverses. Une première, signalée depuis longtemps, est la soustraction d'oxygène qu'une espèce opère dans un mélange d'aérobies plus rapidement que les autres. Lorsqu'une espèce parvient à former à la surface d'un bouillon de culture un voile continu, s'il existe dans la masse du liquide d'autres espèces qui ne peuvent s'adapter à la vie sans air, elles périssent souvent. Mais, d'après les expériences citées précédemment, la cause la plus commune de cet effet nuisible est la production dans le milieu de culture de substances excrétées par la Bactérie, substances qui peuvent être nuisibles à un haut degré pour toutes les autres espèces ou pour certaines seulement.

C'est ce que Guignard et Charrin (4) ont démontré en cultivant ensemble le *Bacille du pus bleu* et le *Bacille du charbon*. Le premier de ces microorganismes prend rapidement le dessus; le second dégénère d'abord, puis disparaît. Le même résultat s'obtient en ensemençant une grande quantité de culture charbonneuse dans les produits solubles du *Bacille du pus bleu*.

L'antagonisme de ces deux espèces ne se montre pas seulement dans les cultures, mais encore dans l'organisme animal; Bouchard a montré que leur inoculation simultanée au lapin détermine dans la moitié des cas une survie de l'animal, alors que l'inoculation du charbon seul est régulièrement mortelle.

Une espèce donnée peut aussi se rendre un milieu impropre. Chantemesse et Widal (5) l'ont remarqué pour le *Bacille typhique*. Si l'on vient à enlever, par un raclage soigné, le produit d'une culture de ce microbe à la surface de la gélatine et que l'on ensemence à nouveau ce même milieu, on n'y observe aucun développement. Ce fait, il est vrai, ne se rencontre pas pour toutes les espèces; ainsi Pasteur a

(1) Garré, Ueber Antagonisten unter Bacterien (*Correspondenzbl. für Schweizer Aertze*, XVII, 1887).

(2) Freudenreich, De l'antagonisme des Bactéries et de l'immunité qu'il confère aux milieux de culture (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888, p. 200).

(3) Soyka, Die Entwickelung von pathogenen Spaltpilzen unter dem wechselseitigen Einfluss ihrer Zersetzungsprodukte (*Fortschr. der Med.*, 1888, p. 769).

(4) Guignard et Charrin, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 8 avril 1889.

(5) Chantemesse et Widal, Recherches sur le Bacille typhique et l'étiologie de la fièvre typhoïde (*Arch. de phys.*, 1887).

annoncé depuis longtemps que le *Bacille du charbon* se développait bien dans des bouillons charbonneux débarrassés de leurs éléments vivants, par filtration sur porcelaine. Cette même Bactérie, du reste, a donné à Freudenreich des résultats positifs avec tous les bouillons de culture qu'il a expérimentés, sauf avec celui du *Spirille du choléra*.

Dans d'autres cas, il semble au contraire que certaines espèces facilitent, en particulier dans l'organisme animal, le développement d'autres, ou au moins exaltent leurs effets. Il existe une véritable *association microbienne* (1) entre de telles espèces. Roger (2) en a cité un cas très intéressant. Le lapin est réfractaire aux inoculations de *Bacille du charbon symptomatique*. Vient-on à mélanger une goutte d'une sérosité contenant cet agent infectieux à 1 centimètre cube d'une culture de *Micrococcus prodigiosus*, qui seul ne détermine presque rien chez le lapin à de plus fortes doses, l'animal succombe en moins de vingt-quatre heures. On peut stériliser la culture de *Micrococcus prodigiosus* par un chauffage à 104° sans que le résultat soit modifié ; il est donc causé par la présence d'une substance soluble supportant cette haute température sans se décomposer. Monti (3) a même observé que les produits solubles sécrétés par certaines Bactéries saprophytes, entre autres l'espèce nommée *Proteus vulgaris*, commune dans les putréfactions animales, pouvaient, par leurs inoculations, renforcer la puissance nocive de certaines espèces pathogènes, qui s'était affaiblie sous des influences diverses.

Tout ceci se comprend depuis que l'on sait que les Bactéries produisent souvent des substances diffusibles qui ont pour effet de diminuer, d'une façon générale, la résistance d'un organisme, en empêchant la diapédèse et conséquemment la phagocytose, ou en amoindrissant la puissance bactéricide du sang.

Dans ces *associations microbiennes*, on peut rencontrer en présence une espèce pathogène et des saprophytes ordinairement inoffensifs qui agissent indirectement comme nous l'avons vu, ou plusieurs espèces pathogènes ; dans ce dernier cas, celles qui sont moins actives ou qui sont venues en dernier, profitent en quelque sorte de la voie ouverte, de la diminution de la résistance de l'organisme due à l'action de la première, il se produit une *infection mixte*.

La *virulence* des espèces pathogènes est une propriété physiologique qui paraît due, nous l'avons vu, dans bien des cas, sinon dans tous, à la production de substances toxiques, matières albuminoïdes ou ptomaïnes, dont l'action explique, en tout ou en partie, les effets observés ; pour d'autres, elle semble être en rapport plus direct encore avec le développement et la vitalité de l'espèce, du moins dans l'état actuel de nos connaissances. Aussi ne doit-on pas s'étonner de voir que toutes les influences qui diminuent la vitalité d'une espèce atteignent aussi, par cela même, son degré de virulence, qu'elles peuvent diminuer, *atténuer* comme on dit. Nous savons que les spores résistent considérablement à toutes ces actions débilitantes ; pour qu'il y ait

(1) Héricourt, Des associations microbiennes (*Revue de méd.*, 1888).
(2) Roger, Effets des associations microbiennes (*Soc. de Biol.*, 19 janvier 1889).
(3) Monti, Influenza dei prodotti tossici dei saprofyti sulla restituzione della virulenza ai microparassiti attenuati (*Acc. dei Lincei*, II, 1889, nº 7).

atténuation, il faut donc qu'il y ait simplement multiplication végétative ; les spores ne s'atténuent pas.

Les agents qui occasionnent l'affaiblissement de l'activité des produits virulents, leur *atténuation*, sont nombreux. Quantité d'agents physiques ou chimiques concourent à ce but dans la nature ou entre les mains des expérimentateurs. Ce que l'on voit le plus souvent intervenir, ce sont des modifications de lumière, de chaleur, de pression, l'influence des substances antiseptiques. Le microbe se trouve soumis à des conditions de vie dysgénésiques qui déterminent souvent de profondes variations dans sa manière d'agir et même dans son aspect. L'atténuation peut être poussée très loin, à la limite ; le microbe, pathogène au début, n'apparaît plus alors que comme un simple saprophyte. A des degrés moins avancés, il présente une activité graduellement décroissante que l'on peut fixer d'une manière assez précise en graduant l'action de la cause affaiblissante ; nous verrons que c'est le moyen d'arriver à obtenir des *vaccins* de force déterminée.

Cette atténuation des propriétés virulentes des espèces pathogènes peut être passagère, dépendant alors probablement d'une diminution de la puissance nutritive du milieu qui s'épuise plus ou moins vite par la vie de la Bactérie, ou de l'âge des éléments du microbe. Dans ce cas, il peut suffire, pour conserver la virulence entière, de rajeunir la culture au moment voulu, en l'ensemençant dans un milieu neuf. Mais l'atténuation est souvent permanente, acquise ; elle se transmet intacte dans les cultures nouvelles, si l'influence atténuatrice vient à être suspendue. Les Bactéries peuvent même alors produire des spores, qui, elles aussi, ne reproduiront plus que les cultures atténuées ; c'est une véritable *race* qui se crée. Même, chez certaines espèces, comme la *Bactérie du charbon*, où il est possible de graduer l'atténuation en faisant varier l'action de la cause atténuatrice, les cultures atténuées gardent et reproduisent, dans les ensemencements obtenus avec elles, le degré exact d'atténuation auquel elles ont été amenées.

L'atténuation obtenue, il est cependant possible, pour certaines espèces, de les faire regagner leur virulence normale. Cette *récupération de virulence* peut s'obtenir par des procédés très divers (1).

Pasteur a montré le premier qu'il était possible, en usant de certains artifices, de renforcer une virulence très affaiblie ou prête à s'éteindre et de voir revenir progressivement à sa puissance première une Bactérie pathogène très atténuée, devenue presque inerte. Il avait reconnu, dans ses belles recherches sur la maladie charbonneuse, que les cultures du *Bacille du charbon*, maintenues à 43° en présence de l'air en abondance, perdaient peu à peu leur virulence, de façon à n'avoir plus d'action sensible, au bout d'une huitaine de jours, sur les cobayes, qui sont cependant d'une réceptivité si grande à l'égard du charbon. En choisissant le moment convenable, une telle culture, sans action sur le cobaye adulte, peut encore tuer un individu de résistance moindre, le cobaye nouveau-né par exemple. Or, par ce passage dans l'organisme animal, le virus s'est légèrement renforcé, de telle sorte que le sang de l'individu mort pourra tuer un cobaye un peu plus fort, d'un jour ou deux ; puis,

(1) Macé, Sur la récupération de la vitalité des cultures de Bactéries par passages sur certains milieux (*Soc. des sc. de Nancy*, 1888).

en opérant de même, il sera possible de faire périr un cobaye de quelques jours, de huit jours, de quinze jours, d'un mois. Et ainsi de suite, petit à petit, après une période assez longue et des passages assez nombreux, on arrivera à du virus mortel pour un cobaye adulte de plus en plus fort, pour le lapin, et enfin pour le mouton lui-même. La Bactérie est revenue à sa virulence primitive, qu'elle gardera si l'on n'intervient pas pour l'atténuer.

Il est possible, en usant de milieux de culture tout à fait inertes, d'observer un renforcement dans la puissance virulente de certaines Bactéries pathogènes, qui s'est atténuée sous l'influence de causes diverses.

Duclaux en a cité un premier exemple pour les cultures d'un *Micrococcus*, qu'il a obtenues du sang de malades atteints de l'affection connue sous le nom de *Clou de Biskra*, et qui paraît bien devoir être regardé comme cause de cette maladie. Les cultures dans le bouillon de cette Bactérie perdent leur virulence avec l'âge. Une culture de trois à quatre jours est en pleine virulence ; une de dix jours la montre déjà bien amoindrie. Une culture de deux mois est tout à fait inoffensive, même à fortes doses. Toutefois, si l'on ensemence du bouillon frais avec une de ces cultures inertes, mais encore vivantes, la culture que l'on obtient récupère en quelques jours la virulence primitive. La virulence paraît ici intimement liée au rajeunissement des éléments.

Un fait beaucoup plus net de récupération de virulence s'observe chez une Bactérie, isolée et étudiée par Legrain dans mon laboratoire, qui, introduite dans l'organisme des grenouilles, détermine chez ces animaux à la fois des accidents locaux, des phlegmons gangreneux surtout, et des accidents généraux de nature septicémique, rapidement mortels. Cette espèce se cultive facilement sur tous les milieux. Les cultures sur gélatine et sur gélose perdent en très peu de temps leur virulence et deviennent sans action sur les grenouilles. Celles sur pommes de terre gardent très longtemps leur activité. Elles sont très abondantes et ont une odeur particulière, ne s'observant pas sur les autres milieux, qui rappelle assez l'odeur de la cicutine. En ensemençant sur pomme de terre des cultures sur gélatine ou gélose devenues tout à fait inertes, on voit la virulence revenir rapidement et regagner, après trois ou quatre ensemencements successifs, son maximum d'intensité.

Le *Streptocoque pyogène*, si répandu dans la nature, qui se dépouille si vite de toute virulence, doit bien certainement, pour déterminer les nombreux accidents qu'il occasionne, récupérer très rapidement sa puissance infectieuse et même la voir s'exalter sous des influences qui nous échappent encore complètement, mais qui sont peut-être voisines de celles qui viennent d'être mises en cause; il en est de même du *Pneumocoque*.

Monti (1) a observé une restitution de la virulence à des microbes pathogènes atténués, lorsqu'on vient à inoculer en même temps qu'eux des produits toxiques sécrétés par certains saprophytes. De tels produits du *Proteus vulgaris*, par exemple, renforcent considérablement la

(1) Monti, Influenza dei prodotti tossici dei saprofyti sulla restituzione della virulenza ai microparassiti attenuati (*Acc. dei Lincei*, II, 1889, nº 7).

virulence de cultures très atténuées de Pneumocoques et de microbes de l'érysipèle. Il y aurait aussi bien à faire la part de l'affaiblissement de l'organisme occasionné par les substances toxiques qu'à mettre en cause une restitution de la virulence propre à l'espèce ; c'est ce que démontrent certaines expériences de Galtier (1).

La virulence en quelque sorte normale d'une espèce peut parfois s'accroître, *s'exalter* sous certaines influences. Les passages consécutifs, multipliés, dans des organismes réceptifs tiennent le premier rang parmi les procédés qui peuvent produire une *exaltation* de virulence. C'est surtout dans les infections déterminées par l'inoculation de produits septiques, particulièrement ceux qui renferment du *Streptocoque pyogène* très virulent, que l'augmentation de virulence devient évidente. Le fait a été signalé depuis longtemps par Coze et Feltz (2) qui, dès 1872, avaient établi que « la septicité augmente par la culture du ferment dans les organismes vivants ». Les découvertes ultérieures n'ont fait que confirmer leur opinion. On sait aujourd'hui que pour plusieurs Bactéries pathogènes, en usant d'une longue série de passages dans des animaux d'expérience, on peut atteindre une virulence considérablement supérieure à celle que l'on est habitué à considérer comme normale.

Les voies par lesquelles l'agent infectieux arrive dans l'économie sont diverses. Il peut y avoir transmission directe d'un individu à l'autre, la Bactérie en cause ne se développant pas en dehors de l'organisme ; c'est la *contagion*. Plus souvent, cette Bactérie peut vivre, au moins à l'état de vie latente, dans le milieu extérieur, étant indifféremment parasite ou saprophyte ; c'est alors par l'intermédiaire de ce milieu que se fait l'invasion ; la maladie est causée par l'*infection* de l'organisme.

Le point de pénétration des microbes pathogènes dans l'organisme est variable. Deux voies surtout leur sont ouvertes, la peau et les muqueuses. Normalement, ces surfaces sont recouvertes d'un enduit protecteur, épiderme ou couche épithéliale, qui les protège d'ordinaire contre l'invasion microbienne ; de plus, dans le tissu conjonctif qui supporte cette couche protectrice se trouvent un grand nombre d'éléments cellulaires doués d'un pouvoir phagocytaire énergique dont l'action vient encore appuyer celle de la couche épithéliale. Lorsque, pour une cause ou pour une autre, la vitalité de ces couches protectrices est atteinte en certains endroits, elles ne suffisent plus à leur tâche, les microbes peuvent pénétrer par ces points faibles. Pour la peau, il faut souvent une telle porte d'entrée, lésion quelconque, souvent minime. D'autres fois, le microbe pathogène semble pouvoir pénétrer directement à travers la peau saine ; c'est ce qui résulte des expériences de Garré (3) avec le *Staphylocoque doré*, de Babès (4) avec le *Bacille de la morve*, de Wasmuth (5) avec les *Staphylocoques pyogènes* et le

(1) Galtier, Nouvelles recherches sur l'influence des associations bactériennes C. R. de l'Acad. des sc., CXVIII, 1894, p. 1001).

(2) Coze et Feltz, Recherches cliniques sur les maladies infectieuses. Paris, J.-B. Baillière, 1872.

(3) Garré, Zur Aetiologie acut. eitriger Entzündungen (*Fortschr. der Med.*, 1885, n° 6).

(4) Babès, *Bull. de l'Acad. de méd.*, 20 mai 1890.

(5) Wasmuth, Die Durchgangigkeit der Haut für Mikroben (*Centralbl. für Bakt.*, XII, 892, p. 824).

Bacille du charbon. Il semble, dans ce cas, que le lieu de pénétration soit la gaine des poils ; les glandes sébacées ou sudoripares ne joueraient ici aucun rôle. La surface pulmonaire, la surface des voies digestives sont exposées de la même manière ; depuis longtemps Koch a démontré que le poumon et l'intestin sains pouvaient être la porte d'entrée de l'infection charbonneuse. On sait que l'agent pathogène de la rage, encore actuellement inconnu, suit la voie nerveuse pour pénétrer profondément dans l'organisme.

Le microbe, entré dans l'organisme comme il vient d'être dit, peut pulluler sur place, gagner même de proche en proche, produire une *infection par continuité*; ou se faire transporter plus loin et produire alors des effets en des points souvent éloignés du lieu de pénétration : c'est l'*infection par métastase*. Il peut alors emprunter deux voies : la voie sanguine, ce qui semble assez rare ; ou, plus communément, la voie lymphatique. La rapidité de la diffusion dépend de la vitesse de la circulation de la lymphe et des barrières que le microbe peut rencontrer sur son trajet, barrières qui sont surtout les organes lymphoïdes, principalement les ganglions lymphatiques, où la phagocytose s'exerce d'une façon très active. On comprend qu'ici la quantité de produit virulent introduit dans l'organisme doit jouer un rôle important ; une quantité très minime peut être détruite complètement par la seule action des éléments actifs de l'organisme, et ne produire aucun effet, alors qu'avec une proportion plus forte il subsistera assez de virus pour produire l'infection. Chauveau (1) l'a très bien mis en lumière. On comprend ainsi comment des animaux peuvent résister à de petites quantités de virus sans pour cela être absolument réfractaires à ce virus ; c'est affaire de quantité, des doses plus fortes ou massives triompheront de la résistance, comme Chauveau l'a prouvé pour l'inoculation du charbon aux moutons barbarins.

On observe souvent de notables différences dans l'action d'un même microbe sur l'organisme suivant sa voie d'introduction. Ainsi l'inoculation intraveineuse du virus de la péripneumonie bovine ne détermine aucun accident, bien au contraire, crée un état d'immunité ; tandis que l'inoculation sous-cutanée produit d'énormes accidents inflammatoires et souvent la mort de l'animal. On peut observer des phénomènes inverses avec d'autres microbes pathogènes.

L'action pathogène des différents microbes ne doit pas être considérée comme un caractère absolu ; tout au contraire, elle est d'habitude limitée à un certain nombre d'espèces animales, qui sont alors dites *réceptives* à l'égard du microbe en question. D'autres résistent complètement à ses effets pernicieux ; elles sont dites *réfractaires*. Entre l'*état réceptif* évident et l'*état réfractaire*, on trouve bien des degrés intermédiaires ; nous avons vu plus haut que l'état réfractaire peut n'être qu'apparent, l'infection n'est alors qu'une affaire de quantité de virus. Nous rencontrerons de nombreux exemples d'état réfractaire absolu. Souvent un microbe pathogène pour une espèce animale donnée l'est aussi pour les espèces voisines. C'est loin cependant d'être un caractère

(1) Chauveau, Influence des quantités des agents virulents (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XC, 23 juin 1880). — *Id.*, De l'atténuation des effets des inoculations virulentes par l'emploi de très petites quantités de virus (*Ibid.*, XCII, 4 avril 1881).

constant ; nous savons, par exemple, que la souris des champs est complètement réfractaire au *Bacille de la septicémie de la souris* qui tue si rapidement la souris de maison. Ou bien, un même produit virulent peut produire, dans les mêmes conditions, des effets bien divers; ainsi le microbe du *choléra des poules* tue rapidement le lapin en inoculation sous-cutanée, tandis que, introduit de la même façon chez le cobaye, il n'y détermine qu'une simple lésion locale, un petit abcès, qui guérit vite.

Chez différents individus d'une même espèce, il existe souvent des conditions spéciales, des *prédispositions individuelles*, qui facilitent ou entravent plus ou moins l'action d'un même microbe pathogène pour cette espèce. On observe journellement que certains individus résistent moins que d'autres à des doses égales d'un même virus. La raison en est certainement dans la différence des processus de défense de l'organisme chez ces individus. Ce sont ces prédispositions individuelles qui font qu'en temps d'épidémie, parmi les individus également exposés à l'infection, il en est qui la subissent, d'autres qui y échappent ; le même fait se retrouve du reste pour toutes les affections qu'occasionnent les microbes pathogènes.

En connaissant le mode d'action des microbes pathogènes sur l'organisme, on comprend facilement que l'état de réceptivité puisse varier, et souvent dans de larges limites, suivant bien des conditions extérieures ou inhérentes à l'organisme.

Il y a longtemps déjà que Pasteur (1) a démontré qu'on pouvait faire périr du charbon la poule considérée jusqu'alors comme réfractaire, en abaissant artificiellement sa température par la simple immersion des pattes dans l'eau froide, par exemple ; Gibier (2), d'un autre côté, voit mourir du charbon les grenouilles qui sont maintenues dans de l'eau à 35°, alors qu'à l'état normal les inoculations les plus virulentes sont sans effet sur elles. Dans de telles conditions, l'activité des processus de défense de l'organisme, particulièrement la vitalité des phagocytes, se trouve amoindrie, comme l'observation le démontre amplement, par l'action des causes perturbantes anormales, froid ou chaleur, suivant le cas. Toutes les causes qui débilitent l'organisme peuvent amener des perturbations équivalentes ; de nombreuses expériences prouvent que le jeûne, la fatigue, facilitent considérablement ou aggravent certaines infections; la présence de produits solubles, sécrétés par d'autres Bactéries, même inertes, a souvent une action favorisante très marquée ; des contusions ou des meurtrissures peuvent produire un même effet favorisant, comme Nocard et Roux (3) l'ont démontré pour le *charbon symptomatique*. Nul doute alors que pour l'homme le surmenage physique ou intellectuel ne doive être considéré comme une cause prédisposante ou aggravante à l'égard des infections.

Il y a même plus; de semblables causes débilitantes agissant sur l'organisme peuvent avoir des effets plus éloignés encore. Elles peuvent

(1) Pasteur, Sur le charbon des poules (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1879, p. 1222).

(2) Gibier, De l'aptitude communiquée aux animaux à sang froid à contracter le charbon par l'élévation de leur température (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCIV, 1882, p. 1605).

(3) Nocard et Roux, Sur la récupération et l'augmentation de la virulence de la Bactérie du charbon symptomatique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, p. 257).

provoquer la pullulation, en quelque sorte le réveil, de microbes nocifs se trouvant depuis longtemps peut-être dans quelque recoin de l'organisme, à l'état de vie amoindrie ou de vie latente; c'est le *microbisme latent*. Ainsi, d'après Verneuil (1), une simple contusion, sans la moindre déchirure superficielle, peut provoquer l'apparition d'une ostéomyélite dont les germes seraient depuis longtemps enfermés dans l'organisme. On sait que sur la surface pulmonaire, sur la muqueuse intestinale, se trouvent souvent à l'état normal des microbes qui peuvent nuire à l'organisme, le *Pneumocoque*, le *Colibacille* par exemple. Dans les conditions ordinaires, le revêtement épithélial suffit, pense-t-on, pour établir une protection efficace. Que le froid, que d'autres agents physiques ou chimiques viennent à rompre l'intégralité absolue de cette couche protectrice, les germes trouvent une porte d'entrée, l'organisme peut être envahi; c'est une véritable *auto-infection* qui se produit alors.

Pour l'intestin, en particulier, les expériences de Würtz et Hudelo (2), de Béco (3), démontrent avec évidence que, sous des influences diverses qui toutes déterminent de la congestion intestinale, les microbes qu'il contient, et dont plusieurs sont certainement pathogènes, peuvent pénétrer dans le sang et dans la cavité péritonéale, déterminer ainsi l'infection de l'organisme; au premier rang de ces agents actifs se trouvent, bien certainement, certaines toxines microbiennes.

D'autres organes se trouvent, au même point de vue, dans des conditions identiques à celles de l'intestin. Le rein donne passage aux microbes quand des toxiques l'ont altéré; il en est de même des glandes. Le placenta, qui, à l'état normal, s'oppose au passage de tout élément microbien, se laisse traverser dès qu'il présente une altération même minime (4); il peut alors se produire l'infection du fœtus.

Un caractère spécial à ces *maladies infectieuses*, qui ne présente pas toutefois une généralité absolue, est qu'elles ne récidivent pas, ou qu'après un certain laps de temps écoulé; l'individu guéri est devenu plus ou moins *réfractaire* à de nouvelles infections par la même espèce. De plus, l'expérience a démontré que cet état réfractaire ou, comme on dit plus souvent, cette *immunité*, temporaire ou définitive, pouvait être acquise par de très légères atteintes de ces infections, telles que celles déterminées expérimentalement par l'inoculation de cultures *atténuées* dans leur virulence par l'un des agents qui l'affaiblissent et la font disparaître. En associant ces deux idées d'atténuation de la virulence des espèces et de non-récidive de l'affection, même après une attaque légère, on est arrivé à la méthode si féconde de la *vaccination*. C'est à Pasteur que revient l'honneur d'avoir fait entrer la vaccination dans le domaine scientifique et d'avoir indiqué les moyens rationnels qui conduisent l'observateur à créer des cultures atténuées, des *vaccins*. On connaît les belles applications de sa théorie au charbon, au choléra des poules, à la rage.

I. Lasting Immun
Variola. Typhoid.
Acute exanthema
Syphilis.
Yellow Fever
Mumps.
Whooping cou
II. Fleeting do
Pneumonia.
Diphtheria
III. Unapparent
Influenza.
Erysipelas.
Cholera.
(Anthrack

(1) Verneuil, Du parasitisme microbique latent (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1886).

(2) Wurtz et Hudelo, De l'issue des Bactéries intestinales dans le péritoine et dans le sang pendant l'intoxication alcoolique aiguë (*Soc. de Biol.*, 26 janvier 1895).

(3) Béco, Pénétration des microbes intestinaux dans la circulation pendant la vie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 199).

(4) Charrin et Duclert, Des conditions qui règlent le passage des microbes au travers du placenta (*Soc. de Biol.*, 9 juin 1894).

Une telle immunité contractée à la suite d'une atteinte de maladie ou à la suite d'inoculation artificielle est dite *immunité acquise* ou *artificielle*. L'*immunité naturelle* est la propriété que possède naturellement un organisme de résister à une infection donnée. On ne sait encore que peu de choses au point de vue de l'immunité naturelle ; c'est surtout l'immunité acquise qui a été étudiée.

L'immunité naturelle peut être complète pour une infection donnée, l'animal y est absolument réfractaire ; ou seulement partielle, l'animal ne présente que des symptômes peu marqués, légers, à côté de ceux déterminés chez les animaux réceptifs.

Cette propriété peut être une propriété de classe, de genre, d'espèce, même de race. Elle peut même aussi être individuelle, ne se rencontrer que chez quelques individus que rien ne peut faire distinguer de leurs voisins ; ici interviennent certainement les prédispositions individuelles que nous avons déjà vues faciliter ou entraver l'infection, ou des particularités héréditaires, et, dans ce cas, il y a alors souvent, sinon toujours, intervention des facteurs de l'immunité acquise. Nous trouverons, en étudiant les espèces pathogènes, de nombreux exemples de cette immunité naturelle de classes, de genres, d'espèces, ou de races. Elle peut tenir dans le premier cas à des différences capitales d'organisation. Ainsi la poule et la grenouille ont été considérées longtemps comme tout à fait réfractaires au charbon si actif chez les Mammifères ; Pasteur a vaincu l'immunité de la première en abaissant sa température ; Gibier, celle de la seconde, en l'élevant. Les différences peuvent être moins marquées, l'immunité n'est qu'incomplète ou apparente ; elle peut être vaincue par de fortes doses de virus, comme Chauveau l'a montré pour l'immunité relative des moutons barbarins à l'égard du charbon.

L'immunité naturelle n'est pas, pour un organisme une propriété générale à l'égard de toutes les infections, mais seulement à l'égard d'une ou plusieurs infections bien déterminées. Elle relève très probablement des mêmes facteurs que l'immunité acquise, facteurs qui semblent tous concourir au même but, l'exaltation des procédés de résistance de l'organisme ; pour Thiltges (1), l'immunité de la poule à l'égard du charbon serait due à la présence de substances bactéricides dans le sang.

C'est surtout l'*immunité artificielle* qui nous intéresse. Elle peut même à la rigueur expliquer l'immunité naturelle qui pourrait bien n'être que la fixation héréditaire d'un caractère primitivement temporaire et acquis ; ce serait deux manifestations du seul et même *état d'immunité*.

Bien des théories ont été émises pour expliquer l'immunité. Tout au début, Pasteur admettait que l'état réfractaire pouvait provenir de la consommation par le microbe de produits de l'organisme nécessaires à sa vie ; il se faisait un véritable épuisement du milieu relativement à ces principes, le milieu devenait impropre à la vie du microbe. Chauveau pensait, au contraire, que le microbe pouvait fabriquer dans l'économie des principes spéciaux, l'empêchant d'y continuer à vivre : la persistance de ces principes expliquerait la durée de l'état d'immunité.

(1) Thiltges, Beitrag zum Studium der Immunität des Huhnes und der Taube gegen den Bacillen des Milzbrandes (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVIII, 1898, p. 189).

L'obtention de l'immunité, l'*immunisation*, par l'introduction dans l'organisme des seuls produits solubles fabriqués par le microbe, détruit ces théories ; à plus forte raison encore l'immunisation à l'égard de certains microbes obtenue à l'aide de produits solubles sécrétés par des microbes bien différents. D'ailleurs, si les produits microbiens agissaient directement, comme le ferait une substance antiseptique par exemple, l'immunité serait surtout marquée alors que l'organisme en contient une plus forte proportion. Or, d'ordinaire, c'est plutôt l'inverse que l'on remarque ; l'immunité met du temps à s'établir, elle ne croît que peu à peu pour atteindre son état maximum, alors que les produits microbiens introduits dans l'organisme tendent toujours à diminuer et à disparaître par suite de leur élimination par les divers émonctoires.

La découverte, par Behring et Kitasato (1), de la propriété immunisante du sérum des animaux immunisés, à l'égard de la diphtérie et du tétanos à la suite d'injections des produits toxiques formés par les microbes de ces affections, a complètement modifié et probablement fixé les idées sur cette question. L'immunité ne pouvait être due qu'à une substance se trouvant dans le sang. Comme de tels sérums n'agissaient pas seulement contre l'infection déterminée par le microbe lui-même, mais aussi contre l'intoxication causée par les produits toxiques qu'il fabrique, détruisant par simple mélange *in vitro* leur activité, on a donné à la substance active le nom d'*antitoxine*.

La première idée qui est venue à l'esprit des expérimentateurs était que cette antitoxine était une simple modification, une transformation des toxines se produisant dans l'organisme. Bien des faits vont contre cette théorie ; la transmission héréditaire du pouvoir antitoxique et de l'immunité, nettement établie comme nous le verrons plus loin, les rapports de ce pouvoir antitoxique avec les variations d'éléments déterminés, démontrent surtout nettement que la substance antitoxique provient de l'organisme lui-même, qui la produit sous des influences déterminées. Ces principes dérivent de la vie cellulaire, actionnée par la présence de substances spéciales, particulièrement les toxines, peut-être aussi par l'influence d'autres agents, agents physiques par exemple. Bien des expériences démontrent que les leucocytes interviennent d'une façon très active dans leur production, comme ils jouent, nous l'avons vu, un rôle prépondérant dans la production de l'état bactéricide. Ces deux fonctions des leucocytes pourraient bien même n'être qu'une seule et même propriété physiologique.

Les leucocytes ne sont cependant pas les seuls éléments doués de cette *fonction antitoxique* ; d'autres organes agissent aussi dans le même sens, d'une façon moins marquée cependant. Les recherches de Charrin et Langlois (2), particulièrement, ont démontré que certains éléments du foie, de la rate, du corps thyroïde, des capsules surrénales, exerçaient une action destructive, ou tout au moins atténuatrice, sur les toxines.

L'antitoxine ne se trouve pas seulement dans le sang, mais dans

(1) BEHRING, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1890, nº 50. — KITASATO, *Zeitschr. für Hygiene*, X, 1891, p. 267.

(2) CHARRIN, Les fonctions antitoxiques (*Sem. méd.*, 1895, nº 18).

d'autres liquides ou humeurs, normales ou pathologiques, de l'organisme. On en a signalé la présence dans le lait (1), l'urine, les sérosités pathologiques du péricarde, de la plèvre, du péritoine, etc. L'antitoxine de ces humeurs provient naturellement du sang.

La nature de ces antitoxines est peu connue. Guérin et Macé (2) considèrent l'antitoxine diphtérique du sérum des chevaux immunisés à l'égard de la diphtérie, comme une substance appartenant au groupe des diastases ; elle en présente en effet la plupart des propriétés.

La persistance de cet état d'immunité qu'acquiert un organisme à la suite d'une atteinte d'infection ou à la suite d'une pénétration de toxines est des plus variables. Elle peut être d'assez longue durée ou au contraire cesser assez rapidement dès que l'incitation nécessaire à une production suffisante d'antitoxine est supprimée. On ne peut encore actuellement tracer de règles générales à ce sujet. L'observation tend à démontrer que la vaccination jennérienne confère à l'homme, à l'égard de la variole, une immunité d'environ dix ans. Dans les expériences de laboratoire, faites avec différents virus, il n'a pas encore été possible d'arriver à préciser de durée ; il semble cependant que l'immunité obtenue par les produits solubles seuls soit d'une persistance moins longue que celle obtenue par l'infection par le microbe lui-même.

La longue durée que présente parfois l'état d'immunité est un indice évident de la profonde imprégnation de l'organisme qui met en œuvre les procédés de résistance.

D'après les détails qui précèdent et surtout la production de l'immunité par la seule action de produits solubles, il n'y a pas lieu de s'étonner des nombreux exemples qui démontrent la transmission de l'état d'immunité par la mère aux produits qu'elle engendre. On a depuis longtemps constaté, par exemple, que l'enfant né d'une varioleuse, naissant sans trace de l'éruption caractéristique, se montrait réfractaire au virus de la variole ou de la vaccine ; de même que l'enfant mis au monde par une femme vaccinée au cours de la grossesse se montre souvent réfractaire à l'inoculation de la vaccine. Chauveau, Arloing, Cornevin et Thomas, Kitasato, ont rapporté de nombreux faits d'immunité d'agneaux nés de brebis vaccinées pendant la gestation contre le charbon ou le charbon symptomatique. On a même observé des faits indéniables d'immunité chez des produits nés d'une mère vaccinée à une époque antérieure à la gestation. Pour les immunisations qui se produisent par l'action d'antitoxines, on comprend aisément qu'il peut y avoir passage direct d'antitoxine maternelle dans le sang du fœtus, le placenta ne s'opposant pas au passage des substances solubles, ou bien production directe d'antitoxine par les éléments cellulaires du fœtus sous l'influence de l'incitation de ces éléments produite par l'antitoxine maternelle. Pour les immunités qui ne paraissent pas provenir de l'existence d'antitoxine, ce peut être par une transmission d'une propriété spéciale des éléments phagocytaires que s'expliquerait cette hérédité. Les recher-

(1) Ehrlich, Ueber Immunität durch Vererbung und Saügung (*Zeitschr. für Hygiene*, XII, 1892). — Brieger et Ehrlich, Beiträge zur Kenntniss der Milch immunirierter Thiere (*Ibid.*, XIII, 1893).

(2) Guérin et Macé, Sur l'antitoxine diphtérique (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 5 août 1895).

ches d'Ehrlich (1) et de Vaillard (2) démontrent nettement que c'est la mère seule qui est apte à transmettre l'hérédité à ses descendants, l'action du père serait nulle, contrairement à quelques observations de Charrin et Gley (3) ; ceci se conçoit facilement d'après ce que l'on sait. Cette immunité transmise par la mère est toujours de courte durée ; elle s'épuise après quelques mois.

Cette question de la transmission héréditaire de l'état d'immunité nous conduit à parler de l'action des microbes pathogènes ou des substances qu'ils fabriquent sur les produits de la génération.

A l'état normal, le placenta de la mère forme une barrière sûre contre la pénétration dans le sang du fœtus d'agents figurés contenus dans le sang de la mère. Il n'en est plus de même pour les produits solubles que le sang maternel peut contenir ; il s'établit forcément un échange, peut-être même un équilibre de diffusion, entre les deux sangs. De plus, il est amplement démontré (4) que le placenta altéré peut très bien laisser passer des microbes pathogènes et les altérations du placenta sont communes dans les infections.

L'influence du père est ici beaucoup plus douteuse. La transmission de l'infection ou de certaines de ses conséquences devrait ici se faire par le sperme, ou plutôt par le spermatozoïde au moment de la fécondation. On a bien signalé la présence dans le sperme de microbes pathogènes, du *Bacille de la tuberculose* entre autres, mais quel peut être le sort de tels microbes ? il serait bien téméraire de l'affirmer.

C'est donc surtout de l'action maternelle qu'il y a lieu de tenir compte ici.

La transmission directe de microbes pathogènes de la mère au fœtus, qui s'observe lorsque le placenta est altéré, détermine généralement des effets et des lésions qui rappellent ce que l'on observe dans l'infection directe de l'organisme. Il n'en est plus de même quand les produits solubles interviennent seuls ; il se produit souvent bien des effets qui diffèrent, parfois même considérablement, des effets ordinaires de l'infection et dont certains peuvent jeter une précieuse lumière sur l'histoire encore si obscure de l'hérédité.

Les recherches de Charrin et Gley (5) sur le lapin et le cobaye, de Féré (6) sur l'embryon de poulet, démontrent qu'en faisant agir des toxines sur la mère pour les mammifères ou sur l'œuf pour les oiseaux, il est possible de créer chez les produits des désordres importants, de produire des difformités variées, le nanisme, l'infantilisme, voire même des modifications tératologiques profondes. C'est une question d'un très haut intérêt pour le biologiste et spécialement pour le médecin.

(1) Ehrlich, Ueber Immunität durch Vererbung und Saügung (*Zeitschr. für Hygiene*, XII, 1892).

(2) Vaillard, Sur l'hérédité de l'immunité acquise (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, n° 2).

(3) Charrin et Gley, *Soc. de Biol.*, 1894, 1895, 1896.

(4) Charrin et Duclert, Passage des microbes à travers le placenta (*Soc. de Biol.*, 1894, p. 476).

(5) Charrin et Gley, Influence de l'infection sur les produits de la génération (*Soc. de Biol.*, 1881, p. 809). — *Id.*, Influences héréditaires (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CXVII, 1894, p. 635). — Charrin, Influence des toxines sur la descendance (*Arch. de phys.*, 1895, p. 798). — *Id.*, Rachitisme expérimental (*Soc. de Biol.*, 18 avril 1896).

(6) Féré, Influence des toxines microbiennes sur l'évolution de l'embryon (*Soc. de Biol.*, 5 mai 1894).

Parmi les êtres vivants, les animaux ne sont pas les seuls à être en but aux attaques de microbes nocifs ; les plantes de tous les groupes ont, tout aussi bien qu'eux, des parasites du même ordre. Bien que les recherches des botanistes ne se soient pas encore très multipliées sur ce point très intéressant, on connaît déjà cependant un certain nombre de maladies de plantes dues à de véritables microbes pathogènes pour elles.

Il est encore difficile de se faire actuellement une idée générale sur le mode d'action de tels agents pathogènes. Les effets qu'ils produisent sont variés (1). Ce peut être une hyperplasie causée vraisemblablement par l'excitation anormale due à la présence du parasite ; d'où formation de tumeurs comme dans la tuberculose bacillaire de l'olivier (2) ou dans la bactériocécidie du pin d'Alep (3). Ou bien, ce sont des phénomènes de nécrose, de pourriture, causés probablement par l'action de sécrétions toxiques ou diastasiques produites par le microbe.

Bactéries chromogènes.

Nous avons vu précédemment (p. 25) que les cellules peuvent former des matières colorantes bien diverses. Ces pigments sont produits par le protoplasma cellulaire, qu'ils teignent d'habitude uniformément. La coloration d'un élément isolé est très faible et difficile à apercevoir ; il ne se produit de nuance sensible à l'œil que lorsque les éléments forment des amas. La plupart du temps, le pigment ne diffuse jamais dans la masse ambiante pendant la vie de la cellule, mais seulement après sa mort, et peut-être aussi dans ces sortes de dégénérescences désignées sous le nom de formes d'involution. Dans quelques espèces, au contraire, la matière colorante se répand plus ou moins loin dans le substratum auquel elle donne alors un aspect spécial. C'est ainsi que les gelées nutritives où se développent les *Bacillus fluorescens*, le *Bacille pyocyanique*, prennent rapidement par diffusion une teinte verdâtre, que n'offre même pas la colonie superficielle. Il est des espèces, le *Bacillus lactis erythrogenus*, par exemple, qui ne forment de pigment que dans leurs spores.

La nuance varie considérablement suivant l'espèce (4). Les *Sarcina lutea*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus cereus flavus* donnent des colonies d'un beau jaune-citron ; les *Bacillus luteus*, *Micrococcus pyogenes aureus*, des Zooglées d'un jaune d'or ; les *Bacilles rouges* donnent du rouge vif ; le *Micrococcus prodigiosus*, du rouge rose ; le *Beggiatoa roseo-persicina*, du rose plus violet ; le *Micrococcus cinnabareus*, du rouge-cinabre ; le *Micrococcus roseus*, du rose-chair. D'autres fois, les conditions de vie déterminent d'importantes variations de nuances.

Le *Bacillus syncyanus* du lait bleu produit du bleu de ciel ou du bleu grisâtre ; le *Bacillus pyocyaneus* du pus bleu, du bleu vert.

Les *Bacilles violets* possèdent un pigment violet noir ou violet tendre.

(1) Vuillemin, Considérations générales sur les maladies des végétaux (*Traité de path. gén. de Bouchard*, t. I).

(2) Prillieux, *C. R. de l'Acad. des sc.*, CVIII, 1889, p. 249.

(3) Vuillemin, Sur une bactériocécidie ou tumeur bacillaire du pin d'Alep (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 26 novembre 1888).

(4) Schneider, Die Bedeutung der Bakterienfarbstoffe für die Unterscheidung der Arten (*Arb. aus den bakt., Inst. der grossh. Hochschule zu Karlsruhe*, 1895).

La couleur brune ou brun noir a été signalée chez le *Bacillus brunneus* par Schroter (1), par Macé chez les *Cladothrix* (2). Elle s'observe aussi chez le *Bacille du lait noir* de Gorini, le *Bacillus mosentericus niger* de Biehl, chez le *Bacille pyocyanique* (3).

Le Bacille de la *diarrhée verte des nourrissons* colore en vert plus ou moins foncé les substrats solides sur lesquels on le cultive. On est moins fixé sur la coloration verte des *Bacillus viridis* et *Bacillus virens* de Van Tieghem (4) et sur le *Bacillus chlorinus* d'Engelmann (5), que ces auteurs regardent, sans preuves à l'appui et à tort très probablement, comme colorés par de la chlorophylle. Le *Bacillus chlororaphis* (6) produit dans les bouillons et la gélatine des houppettes cristallines d'un beau vert.

La présence d'une matière colorante à fluorescence verte a été signalée chez un assez grand nombre d'espèces (7). Flügge l'a indiquée chez les *Bacillus fluorescens liquefaciens* et *Bacillus fluorescens putridus*; Gessard (8) chez le *Bacille pyocyanique* avec la pyocyanine, chez le *Bacille du lait bleu* accompagnant aussi le pigment spécial; Lepierre (9), Ducamp et Planchon (10) chez d'autres Bactéries de l'eau qui semblent bien distinctes des premières. Cette propriété de produire un tel pigment, cette *fonction fluorescigène* comme on a dit, n'est qu'une manifestation de la *fonction chromogène* propre à certains microbes. Il semble, en effet, bien prouvé qu'il est des Bactéries pouvant produire à la fois plusieurs pigments; le fait ne doit, du reste, pas plus étonner que la production simultanée par beaucoup d'Algues de pigment vert et de pigment rose ou bleuâtre. Une intéressante espèce que j'ai isolée d'une eau de puits et que G. Thiry a étudiée dans mon laboratoire, le *Bacille polychrome*, peut donner, suivant les conditions, du vert, du jaune, du bleu, du rose ou du violet, à peu près la gamme complète des couleurs du spectre. Charrin et de Nittis (11) ont observé chez le *Bacille pyocyanique* la production simultanée des pigments noir, bleu, vert et jaune. Des Bactéries différentes, par contre, peuvent produire un pigment identique.

La nature de ces pigments est très peu connue. Quelques-uns seulement sont solubles dans l'eau; la plupart y sont insolubles et solubles

(1) Schroter, Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente (*Cohn's Beitr. zür Biol. der Pflanzen*, 12e, p. 109, 1881).

(2) Macé, Sur les caractères de cultures du *Cladothrix dichotome* (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1888).

(3) Guignard et Sauvageau, Sur un nouveau microbe chromogène, le *Bacillus chlororaphis* (*Soc. de Biol.*, 22 décembre 1894).

(4) Van Tieghem, Observations sur les Bactériacées vertes (*Bull. de la Soc. Bot.*, 1880, p. 174).

(5) Engelmann, Zur Biologie der Schizomyceten (*Bot. Zeit.*, 1882).

(6) Radois, *Soc. de Biol.*, 31 juillet 1898.

(7) Thum, Beiträge zur Biologie der fluorescierenden Bakterien (*Arb. aus den bakt. Inst. der grossh. Hochschule zu Karlsruhe*, 1895).

(8) Gessard, Nouvelles recherches sur le Bacille pyocyanique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890). — Fonctions et races du Bacille cyanogène (*Ibid.*, V, 1891).

(9) Lepierre, Recherches sur la fonction fluorescigène des microbes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895).

(10) Ducamp et Planchon, Note sur un Bacille fluorescent et liquéfiant des eaux d'alimentation de Montpellier (*Soc. de Biol.*, 17 mars 1894).

(11) Charrin et de Nittis, Sur la production simultanée des pigments noir, bleu, vert et jaune, par un Bacille pyocyanique (*Soc. de Biol.*, 2 juillet 1898).

dans l'alcool absolu, l'éther ou le chloroforme : d'autres, insolubles dans ces réactifs, demandent l'emploi de procédés spéciaux pour être isolés. L'isolement des pigments est rendu très difficile par les oxydations ou les réductions qui se passent pendant les manipulations.

La nature véritable de ces produits ne sera bien connue que lorsqu'on pourra les obtenir à l'état cristallisé ; alors seulement on pourra en faire l'analyse élémentaire. Jusqu'ici on n'a obtenu à l'état plus ou moins pur que la pyocyanine et le pigment du *Cladothrix mordoré.*

Certains de ces pigments paraissent devoir être rangés dans la classe des pigments végétaux qui ont reçu le nom de *lipochromes*. Le type en est la *carottine*, matière colorante jaune de la carotte ; d'autres abondent dans les Champignons, *Peziza aurantiaca*, *Spatularia flavida*, *Leotia lubrica*, *Calocera viscosa*, par exemple. Le nom qui leur a été donné provient de ce qu'ils semblent combinés à des corps gras et peuvent se présenter au microscope sous forme de gouttelettes oléagineuses. Leurs nuances sont le jaune, le rouge, le jaune vert et l'orangé. On les appelle aussi *lutéines*, à cause de cette prédominance de jaune.

Les lipochromes sont solubles dans l'éther, l'alcool éthylique et méthylique, la benzine, l'essence de térébenthine, le chloroforme, le sulfure de carbone, l'essence de pétrole. Elles sont saponifiables à chaud par la lessive de soude. Traitées à l'état sec par l'acide sulfurique ou l'acide azotique concentrés, elles prennent une coloration vert pâle, bleu vert ou bleu sombre (réaction de la *lipocyanine*). Au spectroscope, elles donnent deux bandes d'absorption, l'une vers F, l'autre entre F et G.

Les lipochromes rouges sont nommées *liporhodines* ; les jaunes, *lipoxanthines*.

Leur rôle physiologique est très peu connu ; elles fixent peut-être l'oxygène sous l'influence des radiations lumineuses. Comme type de lipochromes bactériennes, on peut citer les matières colorantes du *Staphylocoque doré* et de la *Sarcine orangée.*

Les conditions de milieu ont une influence très variable sur la production de ces pigments.

La lumière ne semble pas du tout nécessaire à la production du pigment. Des cultures de *Micrococcus prodigiosus* et de *Bacillus violaceus*, faites à l'obscurité et conservées à la chambre noire, se sont montrées, après quelques semaines, tout aussi colorées que d'autres, faites en même temps, au grand jour. Le *Micrococcus ochroleucus* donnerait des cultures incolores à l'obscurité.

L'oxygène paraît nécessaire; lorsque l'espèce se développe dans un milieu confiné, elle se colore mal ; quand l'air fait presque complètement défaut, elle ne se colore pas du tout. Les Bactéries à couleurs vives que l'on fait se développer sous une petite couche d'huile donnent des colonies blanches, qui peuvent se teindre, si la couche préservatrice vient à être enlevée. L'oxygène pur serait nuisible ; c'est du moins ce que prouvent les expériences du Charrin et Roger (1) sur le *Bacillus pyocyaneus*. Le *Spirillum rubrum* produit son pigment en anaérobie.

La composition du milieu peut exercer une grande influence sur la

(1) Charrin et Roger, Des modifications qu'on peut provoquer dans les fonctions d'un microbe chromogène (*Soc. de Biol.*, 4 novembre 1887).

production et la nature de la matière colorante. Gessard (1) a observé que, pour le *Bacille pyocyanique*, la production de la fluorescence est étroitement liée à la présence de phosphates dans le milieu ; Lepierre, dans son travail précédemment cité, n'a observé aucune influence des phosphates. La production de pigment noir par le *Bacille pyocyanique* serait étroitement liée à la présence de tyrosine dans le milieu.

La réaction du milieu influe souvent beaucoup sur la nuance du pigment. C'est une simple réaction chimique analogue à celle que présentent bien des couleurs végétales, le tournesol, en particulier. Ainsi, le pigment que produit le *Bacille du lait bleu* dans un milieu neutre est gris ardoisé ; sa nuance passe au bleu de ciel dans les milieux acides et devient rougeâtre en milieu alcalin. Comme bien des espèces modifient souvent du tout au tout la réaction des milieux où on les fait vivre, au fur et à mesure que la culture avance en âge, il arrive qu'on peut observer des successions de nuances diverses, bien qu'il ne soit question que d'une seule et même matière colorante ; la nuance que l'on observe au début, dans un milieu alcalin, change si la Bactérie produit un acide qui, petit à petit, neutralise l'alcali et finit par donner au milieu une réaction nettement acide.

La pyocyanine se conserve sans altération en solution acide, rouge ; elle se décompose au contraire rapidement en solution alcaline, bleue.

Toutes les conditions qui diminuent l'activité du développement, qui *atténuent* la vitalité d'une espèce, font aussi décroître sa puissance chromogène. Des cultures successives de plusieurs générations sont rarement aussi colorées que les premières ; il peut se faire qu'elles deviennent tout à fait incolores. Le *Micrococcus prodigiosus* est souvent blanc rosé dans ces conditions ; le *Bacillus violaceus*, d'un si beau violet noir, devient souvent entièrement blanc dès la troisième ou quatrième culture.

Les produits chimiques nuisibles, les antiseptiques agissent de même et entravent la production du pigment lorsqu'ils sont ajoutés en quantité assez minime pour ne pas tuer la Bactérie. Charrin et Roger ont démontré qu'on pouvait graduer la production de la pyocyanine par le *Bacillus pyocyaneus*, en ajoutant aux cultures des proportions de plus en plus fortes de sublimé corrosif. Tandis qu'avec des proportions de $0^{gr},015$ à $0^{gr},02$ de sublimé par litre, on ne fait que retarder l'apparition de la matière colorante, on l'arrête bientôt en augmentant progressivement la dose.

La chaleur paraît être, en général, une condition défavorable à la production du pigment ; peu d'espèces donnent leur pigment à l'étuve vers 35°, ou n'en produisent que très peu. Le *Bacillus indicus* et le *Bacillus mesentericus niger* sont de celles qui donnent bien leur pigment à l'étuve.

Une de ces espèces à puissance chromogène atténuée, presque disparue, peut cependant, sous des influences de cultures, récupérer la propriété de donner du pigment, tout comme le font des espèces pathogènes pour leur virulence ; en faisant passer plusieurs fois sur pomme de terre le *Bacillus violaceus*, il est possible de voir reparaître son pouvoir chromogène, en partie au moins.

(1) Gessard, Sur la fonction fluorescigène des microbes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 801).

La nature du milieu joue un grand rôle, qui n'est malheureusement encore guère défini. Il est des espèces, le *Bacillus violaceus* par exemple, qui, cultivées dans des liquides, ne forment que des traces de pigments, alors qu'elles en produisent des quantités considérables sur les milieux solides. Le *Bacille du lait bleu* colore le lait en bleu foncé; cultivé sur gélatine ou sur gélose, il colore ces gelées en vert d'abord, puis en brun foncé et la colonie reste blanche.

L'âge des cellules influe sur la nuance du pigment : des éléments âgés se décolorent en partie ou leur nuance change. Les cellules mortes paraissent souvent concentrer le pigment qui diffuse dans le milieu ; le fait se remarque très bien sur le *Micrococcus prodigiosus*. Il en est probablement de même pour les autres protoplasmas vivants. C'est ainsi que doivent s'expliquer les phénomènes décrits par Matruchot (1), qui a vu le protoplasma d'éléments immergés d'une Moisissure du genre *Mortierella*, cultivée avec un *Bacille violet*, s'imprégner de matière colorante violette ; de tels éléments immergés des Moisissures sont souvent morts ou à vie très ralentie. Des phénomènes semblables ont, du reste, été depuis longtemps signalés par Auché, Voges, Lustig, Beyerinck et Schroeter.

Des Bactéries chromogènes peuvent se développer dans l'organisme, où certaines déterminent des troubles importants ; il en est même qui sont nettement pathogènes. Le *Bacillus indicus* tue rapidement les lapins auxquels on en a injecté. D'autres ont une action moins nuisible et beaucoup plus obscure. Le *Bacillus pyocyaneus*, du pus bleu, ne semble jouer aucun rôle dans la suppuration ; les anciens chirurgiens regardaient même l'apparition de la coloration bleue des linges de pansement comme un signe de bon augure. Cette même espèce s'est aussi rencontrée dans la sueur, les sérosités pathologiques (2), avec la même innocuité. Elle peut cependant déterminer chez l'homme une sorte de septicémie grave que l'on n'a encore que rarement observée ; chez le lapin, elle occasionne une maladie expérimentale bien spéciale, étudiée par Charrin (3). Les Bacilles fluorescents de Lepierre, de Ducamp et Planchon ont des effets pathogènes évidents. La sueur rouge doit sa coloration à la présence d'une Bactérie, le *Micrococcus hæmatodes* de Babès (4), qui a de grandes analogies avec le *Micrococcus prodigiosus* ; il se développe très facilement à la base des poils des aisselles et se mêle à la sueur de cette partie du corps.

Le *Beggiatoa rosea-persicina* se développe parfois en telle quantité à la surface de l'eau, qu'il colore en rose rouge de grandes étendues de liquide (5). La même chose peut arriver avec les Bactéries chromogènes; on a observé la coloration rose de quantités considérables de pain due aux *Micrococcus prodigiosus*, la coloration bleue de grandes provisions de lait due au *Bacille du lait bleu* ; ce sont là des exemples classiques.

(1) MATRUCHOT, Une méthode de coloration du protoplasma par les pigments bactériens (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 21 novembre 1898).

(2) ANDOUARD, Sueur et sérosité bleues (*Journ. de méd. de l'Ouest*, 1879).

(3) CHARRIN, La maladie pyocyanique. Paris, 1889.

(4) BABÈS, *Centralbl. für der med. Wissensch.*, 1881, n° 19.

(5) SCHNETZLER, Ueber eine rothe Färbung des Bretsees (*Bot. Centralbl.*, 1887, n° 33, p. 219).

Bactéries photogènes.

La propriété de luire dans l'obscurité n'est pas spéciale aux animaux; un certain nombre de plantes inférieures présentent aussi le curieux phénomène de la *phosphorescence*. On connaît depuis longtemps plusieurs Champignons qui le montrent; c'est surtout *Agaric de l'Olivier*, dont les fructifications, réunies par touffes sur des racines de l'arbre, émettent de belles lueurs blanches pendant la nuit, et l'*Armillaria mellea*, où la partie photogène est les cordons mycéliens qui rampent dans le substratum.

La phosphorescence s'observe chez plusieurs espèces de Bactéries. Pflüger (1) a, le premier, reconnu que les lueurs émises par de la chair de morue fraîche étaient dues au développement à sa surface de petites cellules en suspension dans une glaire visqueuse. Pour lui, ces êtres inférieurs étaient une cause fréquente de la phosphorescence de la mer du Nord.

Cohn (2) rechercha, en 1878, cette espèce, d'après les données de Pflüger, et la nomma *Micrococcus phosphoreus*. Il l'avait rencontrée sur du saumon cuit.

Nuesch (3) retrouva des Bactéries phosphorescentes, en 1877, sur la viande de boucherie; d'après lui, c'étaient aussi des Microcoques. Bancel et Husson (4) les signalèrent sur du homard conservé. Lassar (5) et Ludwig (6) ont pu étudier ce phénomène sur diverses viandes de boucherie et sur plusieurs espèces de poissons de mer frais.

Fischer (7) et Forster (8) ont signalé une phosphorescence semblable à la précédente, le premier sur des poissons de la mer des Indes, le second sur des poissons de la mer du Nord. Le phénomène était dû à des Bactéries en bâtonnets, appartenant à la même espèce, le *Bacillus phosphorescens*.

Giard (9) a observé un phénomène identique sur de petits Crustacés marins, les Talitres, dû à l'infestation par une espèce qui semble différente des précédentes et qui détermine, chez ces animaux, de véritables manifestations épidémiques. C'est sans doute aussi à une Bactérie lumineuse qu'est due la phosphorescence que présentent souvent plusieurs autres animaux inférieurs, en particulier, dans nos régions, les Géophiles (10), la Taupe Grillon (11), et peut-être aussi la phosphorescence des mycéliums des divers Champignons.

(1) Pflüger, Ueber die Phosphorescenz verwesender Organismen (*Arch. für die gesammte Physiol.*, XI, 1875, p. 222).

(2) Cohn, Kryptogamenflora von Schlesien, Bd III, p. 146.

(3) Nuesch, Ueber leuchtende Bacterien, Bâle, 1885.

(4) Bancel et Husson, Sur la phosphorescence de la viande de homard (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXVIII, 1879, p. 191).

(5) Lassar, Die Mikrokokken der Phosphorescenz (*Arch. für die gesammte Physiol.*, XXI, 1880).

(6) Ludwig, Micrococcus Pflügeri (*Bot. Centralbl.*, XVIII, n° 11). — Die bisherichen Untersuchungen über photogene Bacterien (*Centralbl. für Bakt.*, II, 1887, p. 372 et 401).

(7) Fischer, Bacteriologische Untersuchungen auf einer Reise nach Westindien (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 1886, p. 421; II, 1887, p. 54).

(8) Forster, Ueber einige Eigenschaften leuchtender Bacterien (*Centralbl. für Bakt.*, II, 1887, p. 337).

(9) Giard, *Soc. de Biol.*, 19 octobre 1889 et 25 avril 1890.

(10) Macé, Sur la phosphorescence des Géophiles (*Soc. de Biol.*, 1888).

(11) Ludwig, Ueber die Phosphorescenz von Grillotalpa vulgaris (*Centralbl. für Bakt.*, IX, 1891, p. 561).

D'autres *Bacilles phosphorescents* ont été rencontrés dans des conditions similaires sur des poissons morts, des viandes, des animaux marins, dans l'eau de mer. Plus de détails sur eux seront donnés plus loin à l'article *Bacilles phosphorescents*, dans la description des espèces.

Herman (1) a isolé un *Microcoque phosphorescent* sur du homard cuit devenu spontanément lumineux.

Kutscher (2) et Dunbar (3) ont isolé d'eaux de fleuves des Bacilles virgules, voisins du *Spirille du choléra*, présentant une phosphorescence très nette.

La viande sur laquelle se développent ces Bactéries émet dans l'obscurité des lueurs blanches, parfois un peu verdâtres, en traînées mobiles irrégulières, ressemblant aux sillons qu'une allumette phosphorique laisse sur les objets, lorsqu'on la frotte légèrement à leur surface. La phosphorescence est contagieuse de proche en proche ; Nuesch rapporte qu'en une nuit toute la viande d'une boucherie a été envahie. En transportant une petite portion de la substance lumineuse sur un morceau de viande fraîche, celle-ci devient rapidement phosphorescente. La chair de poissons ou d'animaux de boucherie n'est pas le seul milieu où peuvent vivre ces curieuses espèces ; elles végètent très bien sur la gélatine. Elles peuvent même subsister assez longtemps dans de l'eau légèrement salée, comme l'eau de mer, en produisant à la surface leur curieuse réaction.

Le temps pendant lequel le substratum reste phosphorescent est variable. Nuesch a eu de la viande qui est restée lumineuse pendant sept semaines à une température ne dépassant pas 10 degrés. La putréfaction fait disparaître le phénomène, les espèces qui l'occasionnent l'emportant sur les Bactéries lumineuses et en déterminant la rapide disparition. La température influe assez peu, dans de certaines limites. Ludwig a observé que la viande de veau luisait encore à — 10°, et qu'une température de — 14° n'arrivait pas à supprimer les lueurs. La viande, mise au bain-marie dans un tube, est encore phosphorescente à 30° ; à 47°, toute lueur a disparu. Les Bactéries de Fischer ne luisent pas au-dessus de 25 degrés. Les conditions dépendent donc des espèces auxquelles on a affaire.

La lumière émise est blanche et contient, par conséquent, les différentes radiations du spectre. Avec des cultures de *Micrococcus phosphoreus*, Ludwig (4) a obtenu un spectre continu depuis la raie *b* de Fraunhofer jusque dans le violet.

L'air paraît être nécessaire à la production du phénomène ; les cultures ne luisent pas en l'absence d'oxygène. Le sel semble favoriser ce développement de lueurs. Les Bactéries ne luisent pas sur tous les milieux où elles peuvent vivre ; ce qui doit faire dépendre la phosphorescence de la nutrition des espèces qui la présentent. On ne connaît rien de plus des conditions physiologiques de cette curieuse propriété. La lumière ne semble avoir aucune action sur sa production ; des cultures faites à

(1) Herman, La phosphorescence bactérienne (*Le Scalpel*, 25 février 1899).

(2) Kutscher, Zur Phosphorescenz der Elbvibrio (*Centralbl. für Bakt.*, XVIII, 1895, p. 424).

(3) Dunbar, Versuche zum Nachweiss von Choleravibrionen in Flusswasser (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, IX, 1894, p. 379).

(4) Ludwig, Ueber die spectroscopische Untersuchung photogener Pilze (*Zeitschr. für wiss. Mikrosc.*, I, 1884, p. 181).

l'obscurité luisent tout aussi bien que celles développées au grand jour.

C'est très probablement à la présence de ces Bactéries, ou d'espèces semblables, qu'il faut attribuer le curieux phénomène de la phosphorescence de liquides de l'organisme, normaux ou pathologiques, le lait, l'urine, la sueur, la salive, le pus. On en trouve mention de quelques cas dans les anciens auteurs. Henkel (1) rapporte l'histoire d'un fait bien net de sueurs phosphorescentes. Le sujet suait beaucoup ; lorsqu'il se déshabillait dans l'obscurité, la surface de son corps et sa chemise étaient parcourus en tous sens par des traînées lumineuses semblables à des sillons d'allumettes phosphoriques. Tout disparaissait à la lumière et on ne remarquait sur la peau que de petites macules rouges. L'individu exhalait une odeur spéciale, urineuse, plutôt acide qu'ammoniacale, rappelant la choucroute trop fermentée. Nuesch (2) a pu observer à nouveau ce phénomène sur un pêcheur ; il l'a malheureusement peu étudié. Il n'a rien qui doive étonner et rappelle les cas de coloration de plusieurs des sécrétions normales, sueur, lait, salive, par des Bactéries qui les teignent en rouge, bleu, etc.

On est réduit à de pures hypothèses sur le mode de production des matières photogènes. Il y a peut-être intervention de ferments solubles. Dubois (3) a signalé chez un Mollusque marin, dont le manteau est phosphorescent et doit peut-être sa phosphorescence à la présence à sa surface de Bactéries lumineuses, *Pholas dactylus*, la présence de deux substances cristallisables qui, mises en contact en présence de l'eau, produisent la phosphorescence. L'une d'elles paraît être une diastase : l'auteur propose de la nommer *luciférase*. Il est très probable qu'il se passe des faits du même ordre pour les Bactéries phosphorescentes.

Pour Herman, les actions mécaniques, les frottements surtout, seraient à mettre en cause ; c'est souvent, en effet, dans les conditions où ils interviennent que la phosphorescence s'observe. L'état électrique de l'air pourrait aussi intervenir dans la production du phénomène.

La *fonction photogène* est chez les microbes une propriété biologique tout comme la fonction chromogène. Comme cette dernière, comme toutes les autres fonctions vitales, nous l'avons vu, elle est influencée par beaucoup de conditions qui agissent sur la nutrition générale, sur la vie du microbe (4) ; elle s'atténue et disparaît, ou se maintient et s'exalte suivant les conditions de milieu que rencontre l'espèce. C'est, comme la fonction chromogène, comme la fonction pathogène, comme la fonction de ferment, une propriété contingente qui n'est pas nécessaire à la vie de l'espèce, que l'espèce peut même perdre complètement sans cesser de pouvoir vivre, comme nous avons vu des espèces typiquement chromogènes se reproduire abondamment et indéfiniment sans plus sécréter de pigment, ou de vraies espèces pathogènes, atténuées à la dernière limite, pour ainsi dire transformées en véritables saprophytes.

(1) Henkel, Sudor phosphorascens materiæ phosphori argumentum (*Acta physico-medica Acad. cæs. Leop Car. naturæ curiosorum*, vol. V, p. 332, 1740).

(2) Nuesch, *loc. cit.*, p. 130.

(3) Dubois, Sur la fonction photogénique chez les Pholades (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 1887, p. 564). — Sur la luciférase ou zymase photogène des animaux et des végétaux (*C. R. de l'Acad. des sc.*, t. CXXVIII, 1896, p. 653).

(4) Suchsland, Physikalische studien über Leuchbakterien (Ref. in *Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth. IV, 1898, p. 713).

DEUXIÈME PARTIE

TECHNIQUE BACTÉRIOLOGIQUE

CHAPITRE PREMIER

MÉTHODES DE RECHERCHE ET D'ÉTUDE DES BACTÉRIES

I. — INSTRUMENTS

1° Microscope et accessoires.

L'instrument indispensable pour toutes recherches de bactériologie est un bon microscope. On trouvera dans les Traités spéciaux la description et l'usage des microscopes composés bien perfectionnés qui sont fournis par les principaux constructeurs de France et de l'étranger (1). Voici quelques détails touchant de plus près le sujet qui nous occupe.

Parlons d'abord de la partie mécanique. Elle a, pour ce genre d'études, une importance assez grande. Les petits modèles de microscope ne peuvent d'habitude pas servir. On aura certainement grand avantage à user de grands ou moyens modèles : leurs accessoires, bien perfectionnés depuis ces dernières années, trouveront souvent leur emploi, pour la plus grande commodité de l'observateur et la plus grande sûreté de l'observation. La seule limite doit être ici le prix à consacrer à l'achat. Il faut, si faire se peut, choisir au moins un moyen modèle, pourvu d'une crémaillère, pour la mise au point rapide, et de l'appareil d'éclairage connu sous le nom de *condenseur Abbé*, qui rend des services très signalés et doit être considéré comme indispensable à l'étude des Bactéries et en général à l'emploi des objectifs à immersion homogène. Ce condenseur ne s'adapte pas facilement aux petits modèles de microscopes fournis par les fabricants cités ; c'est la raison principale de leur insuffisance. On se rend facilement compte de sa disposition sur les figures 31 et 32, qui représentent des microscopes munis de cet appareil.

L'*appareil d'éclairage Abbé* est une modification heureuse de l'ancien système de Dujardin. Il se compose essentiellement d'un système optique formé de deux ou trois lentilles, destinées à concentrer la lumière sur la préparation (fig. 33). On le place sous la platine du microscope, de façon que la lentille supérieure vienne, en entrant dans l'orifice de la platine, affleurer à la face inférieure de la lame porte-objet, avec laquelle elle peut se mettre en contact direct. Le condenseur est porté (fig. 34) par un collier G, dans lequel il entre à frottement dur ; on peut facilement le remplacer par une pièce de forme analogue sur laquelle se logent les diaphragmes ordinaires, lorsqu'on le juge nécessaire. A ce système optique est annexé un appareil porte-diaphragmes

(1) Les maisons les plus avantageusement connues sont entre autres : Vérick (Stiasnié, successeur); Nachet, 17, rue Saint-Séverin, à Paris ; Zeiss, à Iéna ; Leitz, à Wetzlar ; Reichert, à Vienne ; Powell et Lealand, à Londres. Leurs catalogues sont envoyés sur demande.

spécial. C'est un tambour surbaissé L, dans lequel on peut installer une série de disques percés de trous de grosseurs différentes ou un disque à

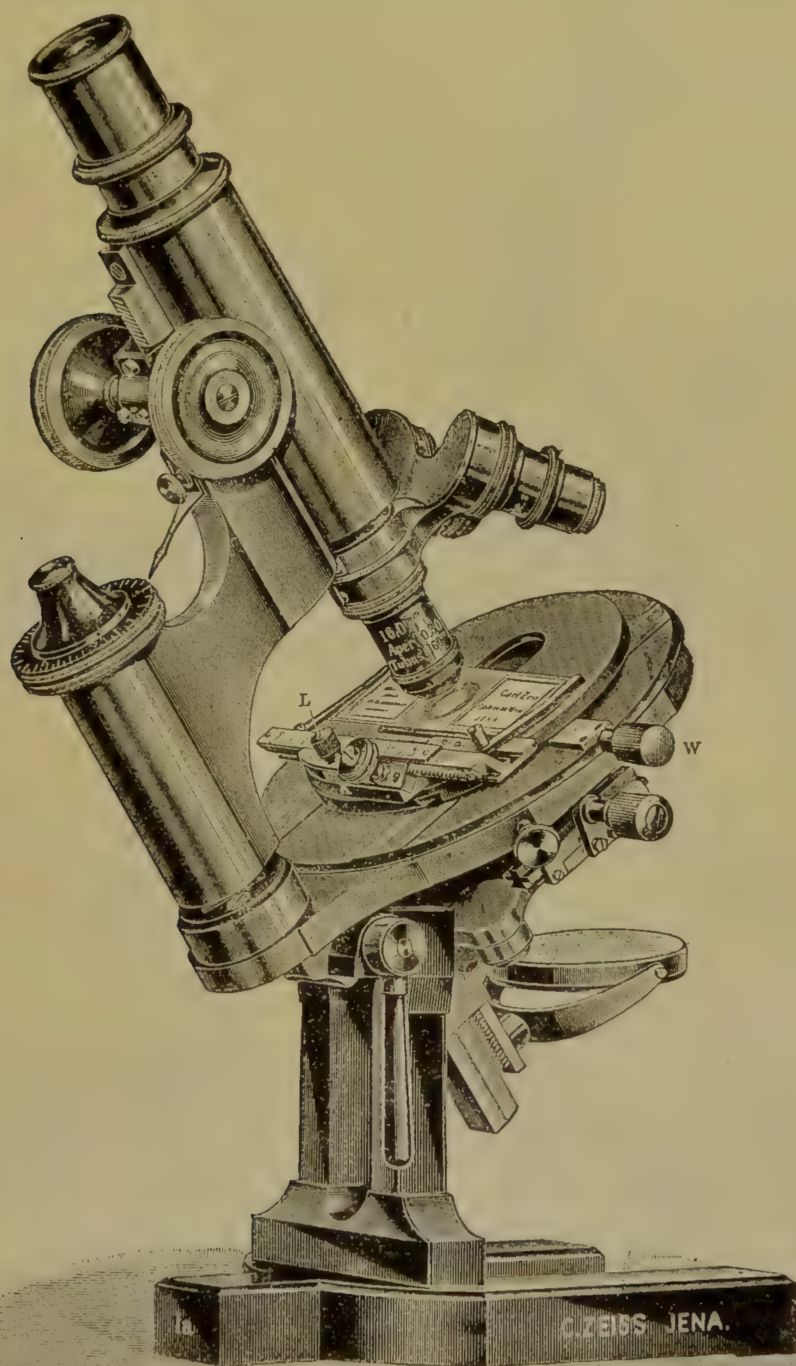


Fig. 31. — Statif Ia de Zeiss.

centre plein, réuni à la circonférence par deux ou trois rayons, destiné à donner le champ noir en supprimant la lumière centrale. Pour changer les disques, on fait pivoter le tambour en tirant le bouton que l'on voit à gauche de la figure. Ce bouton commande une crémaillère M, qui fait avancer ou reculer l'anneau porte-diaphragme et décentre ainsi l'ouver-

ture du disque, ce qui fait tomber sur la préparation des rayons de lumière oblique. Au-dessous se trouve un miroir à deux faces, l'une

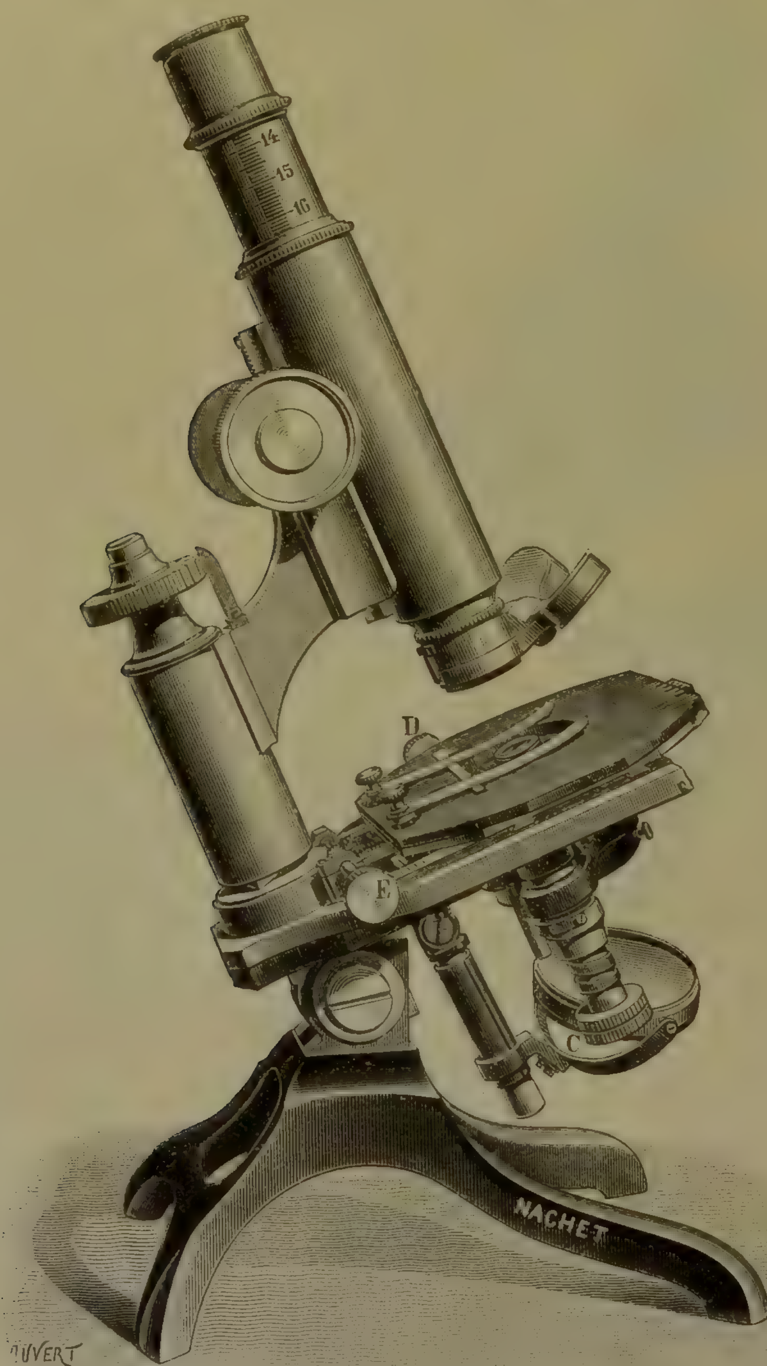


Fig. 32. — Nouveau microscope grand modèle (Nachet).

plane, l'autre concave. On a avantage, le plus souvent, à se servir de la première ; avec les objectifs très faibles, cependant, il serait difficile d'éclairer régulièrement tout le champ avec le miroir plan : il faut employer le concave.

Les constructeurs remplacent très avantageusement, dans les modèles

nouveaux, tous ces disques diaphragmes mobiles par un *diaphragme iris* (fig. 35) formé de lames mobiles les unes sur les autres, fixé dans le tambour du condenseur, qui permet de réduire ou d'agrandir l'ouverture centrale à volonté, d'une façon lente et graduelle, sans rien changer dans l'appareil, en faisant simplement mouvoir un bouton moletté. Pour obtenir le fond noir, il faut se servir d'un disque à centre plein que l'on met en place après avoir ouvert complètement l'iris.

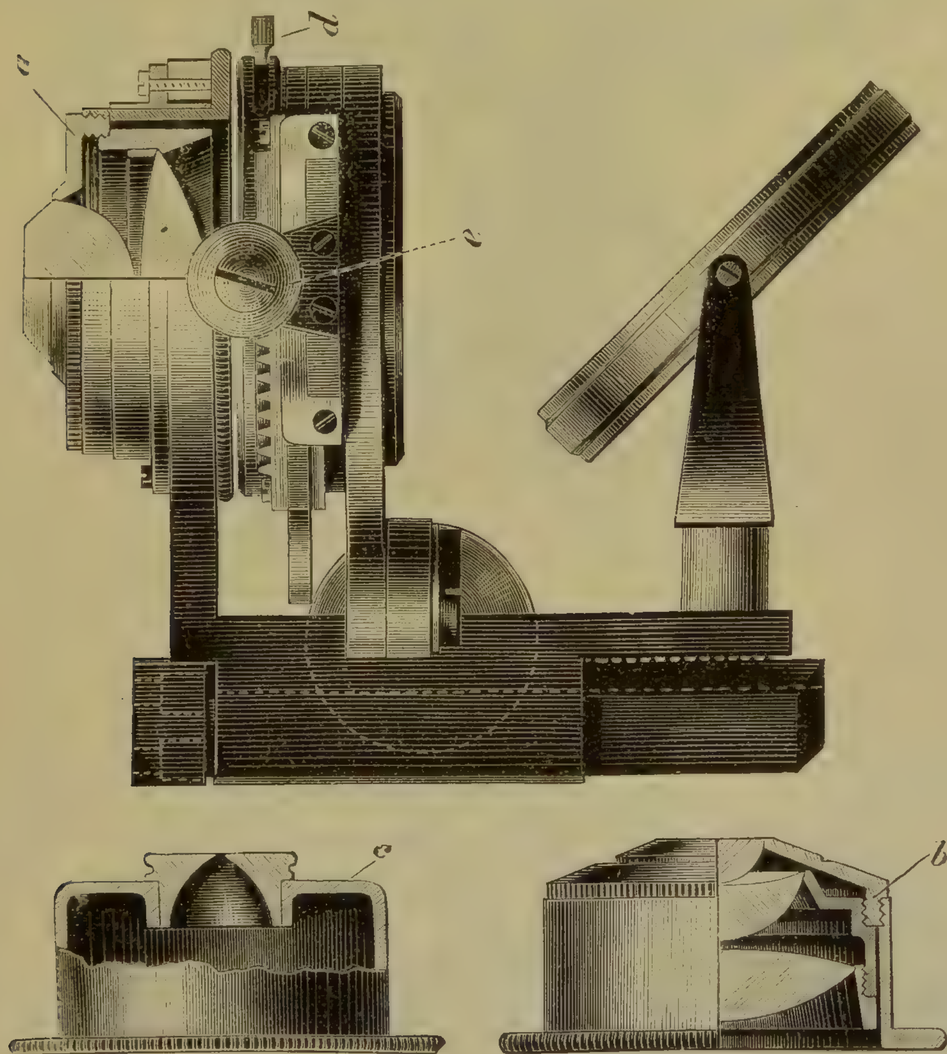


Fig. 33. — Appareil d'éclairage Abbé.

Tout l'appareil peut s'élever ou s'abaisser à volonté à l'aide d'une crémaillère que l'on met en mouvement en tournant le bouton A; on peut ainsi facilement diminuer l'intensité de l'éclairage en abaissant le condenseur, ce qui est surtout nécessaire lorsqu'on use d'objectifs faibles. Souvent même on doit enlever le système optique pour examiner à de faibles grossissements; si l'on veut diaphragmer, on se sert alors des diaphragmes ordinaires, portés par le cône mis à la place du condenseur.

L'emploi des diaphragmes s'apprend surtout par l'expérience. Le diamètre de l'orifice du diaphragme doit varier suivant le grossissement de l'objectif employé et l'intensité de la lumière; les objectifs forts demandent, en général, de petits diaphragmes; les faibles, des moyens

ou des gros. Il est du reste facile de choisir en appréciant les différences de netteté des images. Si on enlève tout disque de l'appareil et qu'on

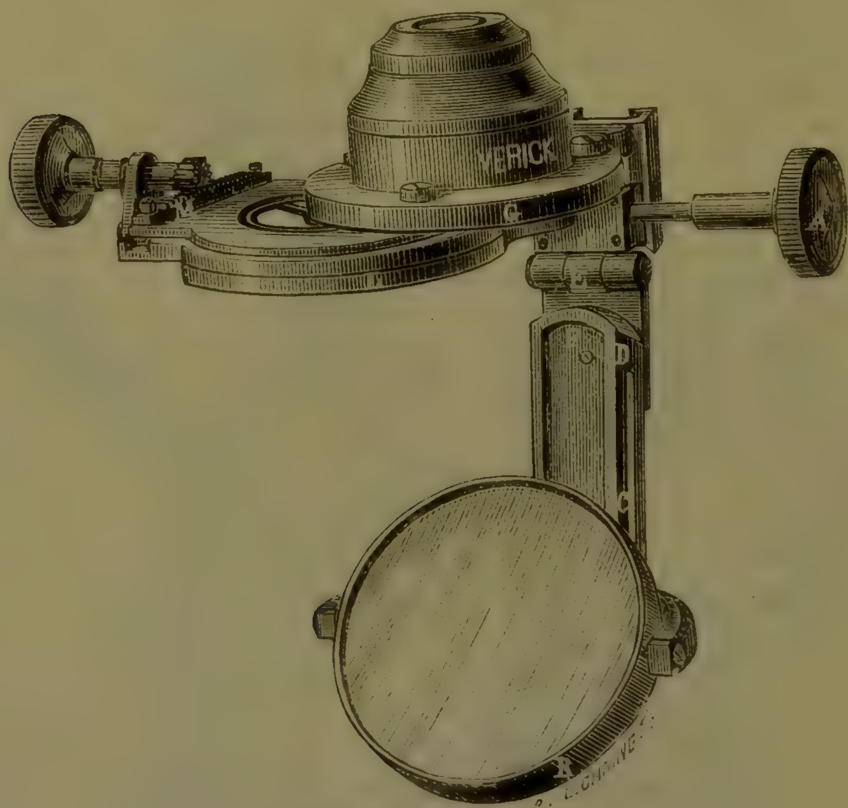


Fig. 34. — Éclairage du microscope Vérick.

laisse libre l'ouverture du tambour L (fig. 34), il arrive dans le cône du système optique un flot de lumière qui noie tous les détails peu marqués de la préparation et ne laisse voir distinctement que les objets colorés. C'est le moyen recommandé par Koch pour rechercher, dans les tissus incolores ou faiblement colorés, les Bactéries qui s'y trouvent et qui ont été colorées par un des procédés indiqués ci-après. C'est du reste par un usage quotidien, plus que par de longues explications, que l'on apprendra à se servir commodément et utilement de l'appareil.



Fig. 35. — Diaphragme iris.

La platine devra être aussi large que possible; elle est d'ordinaire un peu étroite dans la plupart des modèles, ce qui souvent ne permet pas, lorsqu'on examine des cultures sur plaques, d'amener certaines colonies dans le champ de l'objectif. Il est alors très commode, souvent même indispensable, d'user d'un modèle spécial, à grand champ de vision, tel que celui représenté figure 36, construit par la maison Nachet, qui permet d'examiner facilement de grandes sur-

faces. Une platine mobile bien comprise et facile à enlever, construite, par exemple, sur le modèle des constructeurs anglais Ross et Swifft, est d'une très grande commodité. On conçoit, en effet, que lorsqu'il s'agit d'observer

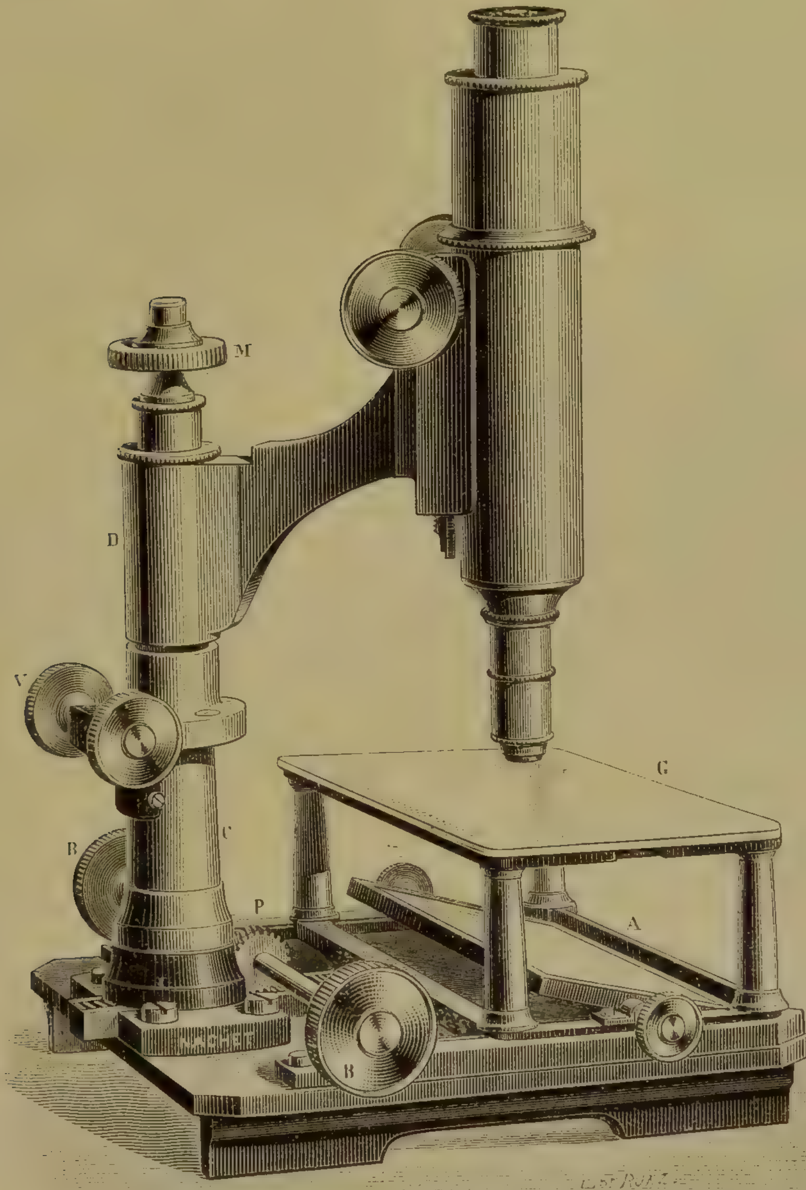


Fig. 36. — Nouveau microscope à grand champ de vision (1/3 de grandeur réelle).

des objets de si faibles dimensions, les doigts, même les plus exercés, servent mal ; des mouvements imperceptibles font sortir du champ du microscope, quand on emploie surtout de très forts objectifs, des points intéressants de la préparation qu'il est souvent difficile de retrouver après. Le chariot mobile permet de mouvoir la préparation en toute sûreté et, de plus, laisse prendre des repères, qui font retrouver facilement les détails que l'on veut étudier à nouveau sur les préparations.

Est-il besoin de signaler les services que rend le revolver porte-

objectif? On en construit d'excellents à trois ou quatre branches, qui permettent d'avoir de suite à sa disposition les trois systèmes optiques à emploi courant, un objectif faible, un fort à sec et un à immersion dans l'huile.

Les changeurs d'objectifs à coulisse de Zeiss offrent aussi de très grands avantages. Chaque objectif peut être facilement centré une fois pour toutes par celui qui s'en sert; le foyer ne change guère et, de plus, on peut se servir d'un nombre indéterminé d'objectifs.

Pour l'examen des grandes surfaces et tout particulièrement pour l'étude si importante des cultures sur plaques, il est très avantageux de pouvoir se servir de pieds de microscopes spéciaux, tels que le microscope à grand champ de vision construit par Nachet, et représenté figure 36. La préparation placée sur le cadre en verre G peut être déplacée d'avant en arrière suivant une marche de 8 centimètres au moyen d'une crémaillère; le corps de microscope D peut lui-même pivoter sur son axe. On obtient ainsi des mouvements longitudinaux et transversaux d'une grande étendue.

La partie optique du microscope a une tout autre importance que la partie mécanique. Trois objectifs sont à conseiller: un faible, un fort à sec et un à immersion homogène.

L'objectif faible doit être à petit grossissement et à long foyer. Il sert surtout à l'examen des colonies, à la constatation de leurs formes et de leur pureté. La longueur de foyer est surtout utile quand on doit puiser dans ces colonies avec un fil de platine ou la pointe d'une aiguille, qui en ramènent une parcelle à examiner ou à ensemencer dans un autre milieu, pour obtenir une culture pure. Les objectifs 0 de Vérick, AA de Zeiss, remplissent très bien ce but. Dans bien des cas, les objectifs à grossissement variable, plus faibles que les premiers, de ces mêmes constructeurs, 0* de Vérick, *a** de Zeiss, sont d'une très grande commodité. On peut, à l'aide d'un collier mobile, qui se trouve sur la monture de ces objectifs, à l'endroit où se met le collier des objectifs à correction, faire varier le grossissement dans la proportion 1 : 2,5 ou 3, en écartant plus ou moins les lentilles. Ce collier porte un index qui arrive, lorsque l'anneau est monté le plus haut possible, au 0 d'une échelle graduée de 0 à 10; les deux lentilles internes ont alors leur écartement maximum, le grossissement est le plus faible. En tournant graduellement le collier, on rapproche les deux lentilles, le grossissement augmente en proportion. Naturellement, dans ce cas, la longueur focale diminue, elle est en raison inverse du grossissement.

L'objectif fort à sec doit être choisi parmi les plus forts du constructeur.

L'usage du 9 de Vérick, du F de Zeiss ou d'un similaire d'autres constructeurs, est à recommander. On peut, avec ces objectifs, obtenir, avec la série d'oculaires, des grossissements variant de 600 à 1200 diamètres, parfaitement suffisants pour observer avec fruit les préparations naturelles ou colorées des Bactéries et préparer l'emploi des systèmes à immersion.

Bien des particularités d'êtres si petits échappent à la puissance résolutive des objectifs à sec, même des meilleurs; aussi le bactériologiste est-il obligé souvent, sinon toujours, au moins dans les observations approfondies, de recourir aux *systèmes à immersion*. On emploie depuis

longtemps les objectifs à immersion dans l'eau, qu'a fait connaître, dès 1844, le physicien italien Amici ; on préfère aujourd'hui ceux à immersion dite *homogène*.

Pour supprimer les inconvénients qui résultent de la réfraction violente des rayons qui, sortant du couvre-objet, entrent dans l'air, et de la nouvelle réfraction qu'ils subissent en entrant dans la lentille frontale de l'objectif, on avait d'abord interposé, entre l'objectif et la lamelle, une gouttelette d'eau qui supprimait en grande partie ces différences de réfraction et augmentait en outre le nombre des rayons arrivant à l'objet, en diminuant la déviation de ceux qui sortent du couvre-objet. L'eau ne remplit qu'en partie le but proposé : son indice de réfraction est en effet plus faible que celui du verre des lentilles (eau : 1,336 ; — crown : 1,500). On s'est donc appliqué à trouver des liquides possédant un indice de réfraction très voisin de celui du verre. Certaines huiles, pures ou mélangées, ont un indice de réfraction et un pouvoir dispersif sensiblement égaux à ceux du crown-glass ; en interposant de ce liquide entre la lentille frontale de l'objectif et la lamelle couvre-objet, on forme un *milieu homogène* pour les rayons lumineux. Si la préparation est montée dans le baume de Canada ou le Dammar et qu'on dépose une goutte du liquide d'immersion entre la lame porte-objet et le condenseur, le résultat est meilleur encore, les rayons ne subissant que peu de changement depuis leur sortie de la lentille supérieure du condenseur jusqu'à leur arrivée dans l'objectif. On obtient ainsi des images bien supérieures comme clarté et netteté à celles fournies par les anciens objectifs à immersion dans l'eau. C'est cette tendance à uniformiser la réfraction dans les différents milieux que doivent traverser les rayons, qui a fait donner à ce procédé le nom d'*immersion homogène*. Les liquides employés varient suivant les constructeurs, et il est bon jusqu'alors de n'employer pour un objectif donné que le liquide indiqué par son fabricant. Zeiss emploie l'essence de cèdre épaissie par une longue exposition à l'air, en couches minces (indice de réfraction = 1,515) ; d'autres recommandent l'huile de ricin additionnée d'huiles essentielles, ou des huiles essentielles pures. Tout liquide à indice de réfraction égal doit *à priori* être bon, si cependant il ne risque pas d'endommager l'objectif.

Après usage, on enlève facilement l'huile sur la préparation ou sur l'objectif avec un tampon d'ouate ou un linge fin, imbibés d'alcool, de xylol ou de benzine pure.

Ces objectifs sont d'habitude construits sans correction, parce qu'un écartement un peu fort des lentilles nuirait beaucoup à la perfection de l'image ; ils sont corrigés pour une épaisseur moyenne de couvre-objets. Du reste, l'épaisseur des couvre-objets n'influe sur eux que dans de très larges limites.

Les nouveaux objectifs *homogènes apochromatiques* de Zeiss, et ceux que possèdent aujourd'hui tous les bons constructeurs, sont certainement à recommander. Ils se distinguent par une correction parfaite de l'aberration chromatique et l'aberration de sphéricité.

Les objectifs à immersion à eau, ordinaires ou apochromatiques, sont souvent d'une grande commodité, en permettant d'observer les préparations faites sur lame porte-objet, sans interposition de lamelle.

Les systèmes oculaires sont moins importants que les objectifs ; leur construction, bien moins délicate, ne demande pas des soins si minu-

tieux et des calculs aussi compliqués. Zeiss construit, spécialement pour ses objectifs apochromatiques, des oculaires dits *compensateurs*, destinés à corriger, pour l'observateur, certains défauts de l'image de l'objectif. Ces oculaires s'emploient aussi avec les objectifs à grand angle d'ouverture, de l'ancienne série de ce constructeur. Il les numérote 1, 2, 4, 8, 12, 18, le numéro désignant le grossissement oculaire de chacun d'eux. Dans ces conditions, si l'on a déterminé une fois pour toutes le pouvoir grossissant de chacun des objectifs que l'on possède, on arrivera bien vite à la mesure du grossissement total du microscope avec un assemblage optique donné. Il suffira de multiplier ce dernier chiffre par le numéro de l'oculaire ; on sait, en effet, que le grossissement d'un microscope est égal au produit du grossissement de l'objectif par celui de l'oculaire. Il faut, en tout cas, n'opérer qu'avec une longueur de tube toujours identique. L'emploi des oculaires chercheurs, à grossissement très faible, et surtout d'un oculaire à grand champ, comme celui que construit la maison Nachet, peut donner d'excellents résultats, particulièrement pour l'examen des cultures microbiennes.

Une *loupe montée* sera dans bien des cas d'une grande utilité. Elle servira à étudier la forme et l'aspect des colonies que donnent les Bactéries sur les milieux où on les cultive. Elle est indispensable pour une numération exacte dans les cultures sur plaques. Les constructeurs cités en possèdent de très beaux modèles.

La recherche des Bactéries dans l'intérieur des tissus nécessite l'emploi de *microtomes*, permettant d'obtenir des coupes suffisamment minces. On connaît ces instruments, qui sont d'un usage courant dans les laboratoires. On peut user de petits microtomes à main, ou mieux des grands modèles à glissière en métal, construits sur le principe de l'ancien microtome en bois de Rivet, par la plupart des constructeurs. Yung (de Heidelberg) et Vérick (de Paris) en fabriquent de différentes tailles avec tous les perfectionnements que l'on sait.

En bactériologie, comme dans toute étude de cytologie, une chose importante et délicate est la détermination du diamètre réel des objets que l'on observe. La difficulté tient surtout ici aux dimensions très faibles des Bactéries qui ne mesurent d'ordinaire que quelques millièmes de millimètre et parfois même de simples fractions de cette quantité. On sait qu'on prend habituellement le millième de millimètre comme unité de grandeur en microscopie ; on le représente par la lettre grecque μ et on l'appelle *micron* ou plus simplement *mu*.

Pour arriver à cette mensuration, on se sert du *micromètre oculaire* et du *micromètre objectif*. Ce dernier instrument est un porte-objet sur lequel a été gravé au vernier 1 millimètre divisé en cent parties égales : chacune des divisions équivaut donc à 1 centième de millimètre. Le micromètre oculaire est un disque de verre, portant 5 millimètres divisés en cinquante parties égales. Ce disque se place sur le diaphragme médian de l'oculaire ; il y est à demeure, ou peut s'enlever à volonté.

La méthode la plus facile et la plus expéditive consiste à déterminer, une fois pour toutes, le pouvoir amplifiant de la série d'objectifs dont on se sert. Pour ce faire, on installe le micromètre objectif sur la platine du microscope et on met au point, avec un objectif donné et l'oculaire micrométrique. On voit nettement l'image des deux échelles. En les faisant coïncider, on calcule la valeur d'une division du micro-

mètre oculaire exprimée en centièmes de millimètre, pour l'objectif dont on s'est servi. On note cette quantité et on fait de même pour les autres objectifs. En dressant un tableau de ces différents résultats, il est facile d'arriver à une mensuration quelconque. On notera la valeur en divisions du micromètre oculaire et il suffira de multiplier ce chiffre par le pouvoir amplifiant de l'objectif porté sur le tableau. Le tube du microscope doit avoir naturellement une longueur identique dans les deux cas.

Voici un exemple, pour mieux indiquer la marche à suivre. Nous voulons déterminer les dimensions d'un objet vu à l'aide d'un objectif avec lequel il faut cinq divisions du micromètre oculaire pour recouvrir une division du micromètre objectif : chacune des cinq divisions vaut donc, à ce grossissement, 1 centième de millimètre divisé par 5, ou 2 millièmes de millimètre, 2 μ. S'il nous faut 3 divisions 1/2 du micromètre oculaire pour recouvrir l'objet en longueur, sa longueur sera $3\ 1/2 \times 2\ \mu = 7\ \mu$. De même pour la largeur.

Ce grossissement n'est pas un chiffre rigoureusement absolu ; il dépend en effet du grossissement de l'oculaire, qui varie dans les limites restreintes pour chaque œil qui regarde et aussi pour le même observateur, suivant l'âge et l'état de repos ou de fatigue de l'organe. Aussi est-il à recommander, sur un dessin par exemple, d'indiquer les systèmes objectif et oculaire employés.

Dessin. — Le dessin des objets, vus au microscope, outre qu'il oblige à les étudier d'une manière beaucoup plus complète et approfondie, a le grand avantage de fixer, d'une façon durable, bien des détails de structure, bien des particularités de développement, qui, au bout d'un temps plus ou moins long, échapperaient forcément à la mémoire la mieux douée. Il faut donc s'y astreindre dès le commencement et se contenter même d'esquisses très simples à défaut d'œuvres plus achevées.

Les dessins faits à simple vue ne suffisent pas, lorsqu'il est nécessaire d'en avoir de précis. Les proportions et les rapports exacts sont trop difficiles à garder. Il faut recourir aux appareils connus sous le nom de *chambres claires*. On en trouve la description dans les catalogues des constructeurs et dans tous les Traités de microscopie, où l'on en apprendra l'emploi. La distance où l'on place la feuille de papier, sur laquelle se projette l'image, fait varier très notablement l'amplification de celle-ci. Lorsqu'on dessine à la hauteur de la platine du microscope, ou, à plus forte raison, sur la table de travail, l'image est agrandie et, ce qui est plus grave, légèrement déformée. Il sera souvent plus avantageux de rapprocher la feuille de papier de l'oculaire jusqu'à ce que l'image que projette sur elle le prisme de la chambre claire soit égale en grandeur à celle vue dans l'oculaire lui-même. Cette dernière distance varie naturellement avec l'objectif employé et avec l'œil de l'observateur. Elle est d'autant plus petite que l'objectif est plus faible. On peut se servir d'un pupitre qu'on élève ou abaisse à volonté, ou, plus simplement, d'une pile de livres plus ou moins haute qui supporte une tablette sur laquelle on dessine.

Il est toujours difficile et souvent impossible d'achever un dessin à la chambre claire. Quelque soins qu'on prenne, on obtient des

traits tremblés, des formes incomplètes. Lorsque l'esquisse est minutieusement faite à la chambre claire, que tous les détails importants sont notés, on finit le dessin à la main levée, en regardant de l'œil gauche au microscope.

Il faut toujours noter, sur un dessin, le grossissement sous lequel il a été exécuté : grossissement 550, ou 550/1. On peut se contenter de marquer les numéros des systèmes optiques employés et le nom du constructeur : grossissement objectif 9, oculaire 2 (Vérick). — Obj. apochr. 1,30, oc. comp. 8 (Zeiss).

Photographie. — Ce mode de reproduction des images donne, en bactériologie, des résultats exceptionnels. L'exactitude rigoureuse de la reproduction des formes et des dimensions doit faire préférer les photographies aux meilleurs dessins. De plus, celles-là possèdent des caractères d'authenticité que ne présenteront jamais les derniers. Les photographies peuvent avoir une valeur à peu de chose près égale à la préparation elle-même.

La photographie sera tout particulièrement avantageuse pour la représentation, en grandeur naturelle ou à un faible grossissement, des colonies, d'aspect souvent caractéristique, que les Bactéries donnent sur divers milieux de culture. C'est assurément le meilleur moyen de rendre les formes, si compliquées souvent, des colonies des cultures sur plaques de gélatine préparées d'après la méthode de Koch. Il serait difficile ou presque impossible de représenter par le dessin, dans toute leur exactitude, les détails très fins de certaines colonies, détails qui sont certainement destinés à entrer, pour une grande part, dans la diagnose de l'espèce. Il en est de même pour les cultures en tubes, d'aspect très caractéristique pour beaucoup d'espèces.

La reproduction de préparations à de forts grossissements à sec ou à immersion demande un outillage perfectionné et des soins plus minutieux, devant porter sur l'éclairage et sur la mise au point.

La photographie n'est pas seulement, pour l'étude des Bactéries, un excellent moyen de reproduction offrant des garanties que n'ont jamais les dessins : elle s'élève à la hauteur d'une méthode de recherches de premier ordre qui, en des mains habiles, a déjà donné des résultats des plus précieux. La plaque sensible se laisse impressionner par des détails invisibles à l'œil, parce que l'objectif photographique peut utiliser des rayons lumineux de longueur d'onde trois fois plus petite que ceux que peut utiliser l'œil. Un cliché photographique pourra donc montrer des détails que l'observateur n'arrivera jamais à distinguer dans la préparation, malgré l'attention la plus soutenue. Il suffit de dire que c'est sur des clichés, ou des épreuves positives obtenues avec eux, que Koch a découvert les cils vibratiles de plusieurs espèces de Bactéries mobiles. On trouvera dans un beau mémoire de ce savant (1) d'exactes reproductions photographiques des cils vibratiles du *Spirillum undula* et d'un Bacille, qui est probablement le *Bacillus subtilis*.

Nous renvoyons aux ouvrages spéciaux pour tous les détails (Voy. Albert Londe, *Aide-mémoire de photographie*, Paris). La pratique

(1) Koch, Untersuchungen über Bacterien (*Cohn's Beitr. zür Biol. der Pflanzen*, II, 1877, p. 399, et pl. XIV, XV et XVI).

générale s'apprendra dans les Traités ordinaires de photographie ; ou, mieux, en se faisant guider quelque temps par un bon photographe, artiste ou amateur. Quant aux méthodes particulières à la photomicrographie, elles sont exposées et discutées magistralement dans les traités de Moitessier (1), Huberson (2), Viallanes (3), de Neuhauss (4), Choquet (5), etc. Plusieurs mémoires contiennent des renseignements plus particuliers aux Bactéries. On consultera avec fruit plusieurs travaux de Koch (6). Un excellent article de Roux (7) renferme, à côté de conseils très pratiques, une série de photomicrographies vraiment remarquables. L'*Atlas* de Crookshank (8) contient une collection bien réussie de quatre-vingt-six photographies représentant des espèces intéressantes. L'*Atlas* de Fraenkel et Pfeiffer (9) montre au mieux les excellents résultats qu'on peut retirer de ces procédés de reproduction ; celui de Itzerott et Niemann (10), moins complet, renferme cependant pas mal de figures intéressantes.

N'importe quel appareil de photographie que l'on peut relier d'une manière convenable à un bon microscope, permet d'obtenir de très bons résultats; néanmoins, il est toujours plus commode de recourir aux appareils imaginés spécialement pour le but que l'on vise.

Depuis ces dernières années, les appareils de photographie microscopique ont reçu des perfectionnements très importants. La figure 37 représente le grand modèle que construit Vérick. La disposition horizontale de la chambre noire est très commode pour l'éclairage et la mise au point sur la glace dépolie. Elle ne peut malheureusement pas servir pour la photographie des cultures sur plaques, où la liquéfaction de la gélatine, qu'occasionnent beaucoup d'espèces, empêche de disposer la plaque verticalement. Il faut alors faire modifier légèrement l'appareil pour pouvoir le placer verticalement. Zeiss fabrique un appareil plus perfectionné encore (fig. 38), mais d'un prix beaucoup plus élevé. Les petits appareils verticaux, plus simples, comme celui représenté figures 39 et 40, sont tout à fait à recommander.

On enlève souvent l'oculaire ; lorsqu'on veut s'en servir, on doit prendre des oculaires spéciaux, dits *achromatiques* ou *orthoscopiques*.

Zeiss construit, sous le nom d'*oculaires à projection*, des oculaires spécialement destinés à projeter l'image donnée par l'objectif sur un écran ou sur une plaque sensible. C'est un système optique soigneuse-

(1) Moitessier, La photographie appliquée aux recherches microscopiques. Paris, J.-B. Baillière, 1866.

(2) Huberson, Précis de microphotographie. Paris, 1879.

(3) Viallanes, La photographie appliquée aux études d'anatomie microscopique. Paris, 1886.

(4) Neuhauss, Lehrbuch der Mikrophotographie. Brunswick, Harald Brun, 1890.

(5) Choquet, La photomicrographie histologique et bactériologique. Paris, Ch. Mendel.

(6) Koch, Mémoire précité et : Zur Untersuchungen von pathogene Organismen (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881).

(7) Roux, La photographie appliquée à l'étude des microbes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 206).

(8) Crookshank, Photography of Bacteria. London, Lewis, 1887.

(9) Fraenkel et Pfeiffer, Mikrographischer Atlas der Bakterienkunde. Berlin, Hirschwald, 1889-1891.

(10) Itzerott et Niemann, Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde. Leipzig, J. A. Barth, 1895, trad. française par S. Bernheim. Paris, Maloine, 1895.

ment corrigé au point de vue des aberrations de couleur et de sphéricité. On obtient d'excellents résultats pour la microphotographie, en les combinant avec les objectifs apochromatiques du même constructeur.

La question de l'éclairage est une des principales. Pour les faibles grossissements, on peut se contenter de la lumière diffuse du jour ou de celle fournie par les lampes à pétrole ou à gaz ordinaires. Il faut avoir recours, pour photographier avec de forts objectifs, à des sources lumineuses d'intensité plus grande. On peut user de la lumière solaire, qui nécessite alors l'emploi d'un *héliostat*, à cause du déplacement apparent du soleil, très sensible dans les poses un peu longues. La lumière oxycalcique ou oxymagnésienne, ou l'éclairage électrique, sont beaucoup plus faciles à régler et d'un usage plus constant, surtout dans nos régions où le soleil est souvent rare ; à leur défaut, on peut user de très fortes lampes à pétrole, ou d'un bec Auer, ce qui nécessite alors un temps de pose très prolongé. Lorsqu'on emploie la lumière artificielle, il faut se rappeler qu'elle est moins riche en rayons chimiques que la lumière solaire, que, par conséquent, le temps de pose doit être augmenté. L'expérience apprendra mieux que toutes les explications la différence qu'il faut y mettre.

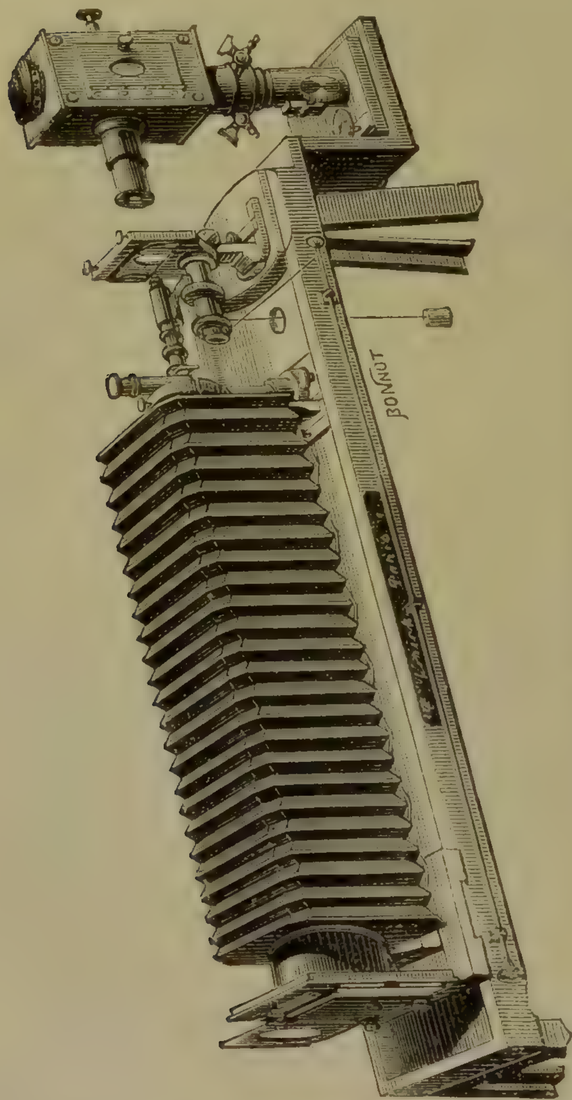


Fig. 37. — Appareil de photographie microscopique (Vérick).

C'est également la pratique qui fera connaître les usages si importants du condenseur et des diaphragmes.

La lumière oblique pourra être très utile, principalement dans la photographie des colonies sur plaques de gélatine ou en tubes. Il faut, ici, s'arranger de façon à bien faire valoir les reliefs de la colonie. Pour les cultures en tubes, on doit, en plaçant convenablement la source lumineuse et en s'aidant d'écrans, faire disparaître le plus possible les reflets qui se produisent sur la surface convexe du verre ; ils nuisent à la netteté de la photographie et ne permettent pas d'avoir une image complète.

Il serait très intéressant de pouvoir photographier des Bactéries en

vie, dans le liquide où elles se développent. La chose est rarement possible. Pour les espèces mobiles, il n'y a pas à y songer. Les autres sont presque toujours animées de trépidation brownienne, qui suffit à donner des images complètement troubles. Enfin la transparence

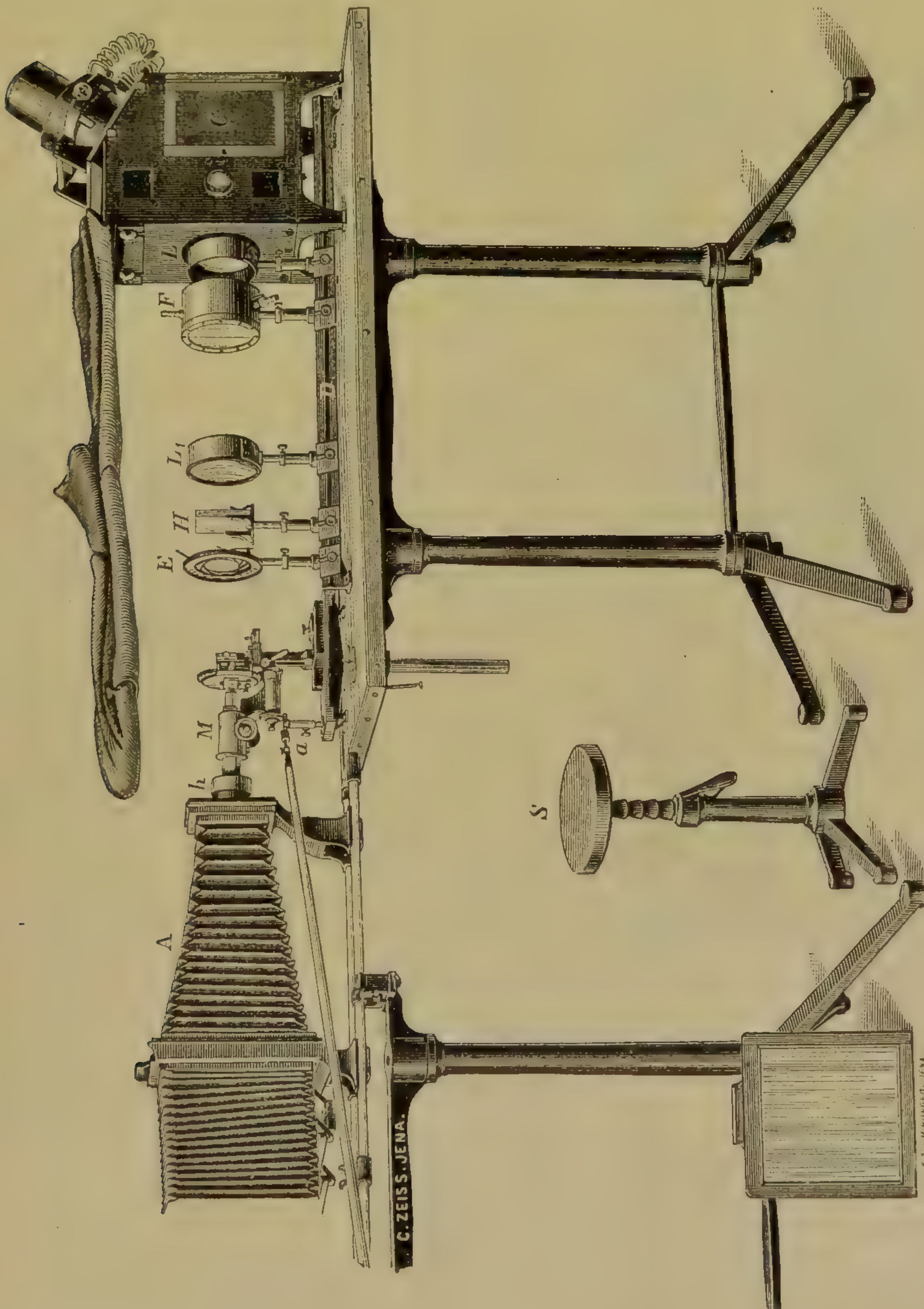


Fig. 38. — Grand appareil microphotographique (Zeiss).

est en général si grande que les contours sont trop peu nets, sur les fonds éclairés, pour donner une bonne photographie. C'est un côté de la question à étudier, qui pourrait donner de précieuses indications.

La plupart du temps on a donc recours aux préparations colorées. Les couleurs d'aniline rouges, bleues et violettes, dont on se sert de

préférence, venant mal en photographie, Koch recommandait l'emploi de bruns ou particulièrement de vésuvine ou brun Bismarck. Depuis, l'invention des plaques *isochromatiques* ou *orthochromatiques* permettant de rendre les nuances bleue et violette avec leur intensité propre, et, beaucoup moins bien, le rouge, a considérablement facilité la photographie des Bactéries traitées par les diverses méthodes de coloration. Le développement de ces glaces se fait d'après les procédés ordinaires ; le temps de pose est égal à celui des autres. Viallanes recommande de combiner leur emploi avec celui de la lumière monochromatique jaune que l'on obtient facilement en interposant, entre la source lumineuse et la préparation, une lame de verre jaune ou une petite cuve, à faces planes et parallèles, remplie d'une solution saturée d'acide picrique.

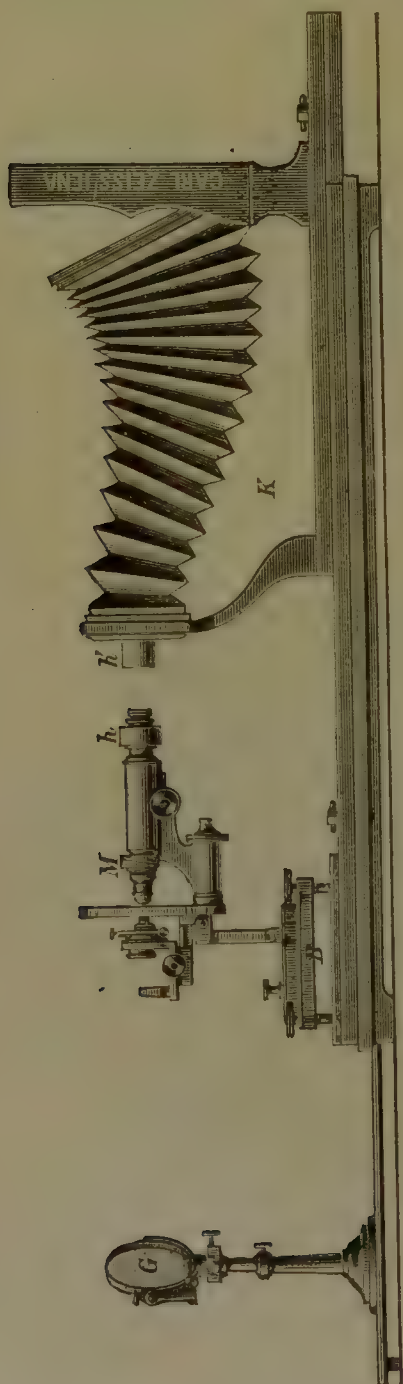


Fig. 39. — Petit appareil photographique horizontal (Zeiss).

A côté des reproductions photographiques, comme à côté des dessins, il est nécessaire de faire figurer l'indication exacte du grossissement. On le fait comme pour les dessins, ou, mieux, d'après l'excellente méthode de Roux, en plaçant, à côté des épreuves positives, une photographie du micromètre objectif, obtenue avec la même composition optique et le même tirage de chambre noire.

En agrandissant les clichés obtenus, on arrive à avoir des images considérablement grossies. Malheureusement, bien des détails se perdent dans ces manipulations : on perd en netteté beaucoup plus qu'on ne gagne en grosseur. On s'en rendra facilement compte en examinant l'*Atlas* de Crookshank, dont nous avons parlé plus haut.

Les procédés actuels de phototypie permettent de reproduire d'une façon très convenable les épreuves obtenues. Il est permis de penser que les essais heureux de photographie polychrome trouveront une intéressante application dans la reproduction des préparations colorées.

2° Appareils de chauffage.

A côté du microscope, instrument indispensable, se placent, avec une importance moindre cependant, les appareils de chauffage à une tempé-

rature élevée ou à une température moyenne et fixe (1). Les premiers sont destinés à porter à une haute température, soit dans l'air sec, soit dans la vapeur d'eau, les ustensiles et les substances à employer, de façon à tuer les germes qu'ils pourraient renfermer, à les *stériliser*.

Les autres doivent maintenir, à une température moyenne mais fixe, au moyen d'un chauffage continu et réglé, les milieux où l'on fait vivre les Bactéries.

Le mode de chauffage le plus commode est sans contredit le gaz. On peut cependant le remplacer par tout autre combustible, charbon ou pétrole par exemple; on peut, de même, utiliser, aux lieu et place d'étuves à température fixe, les différents modèles de couveuses artificielles, à simple manchon d'eau chaude ou à feu continu.

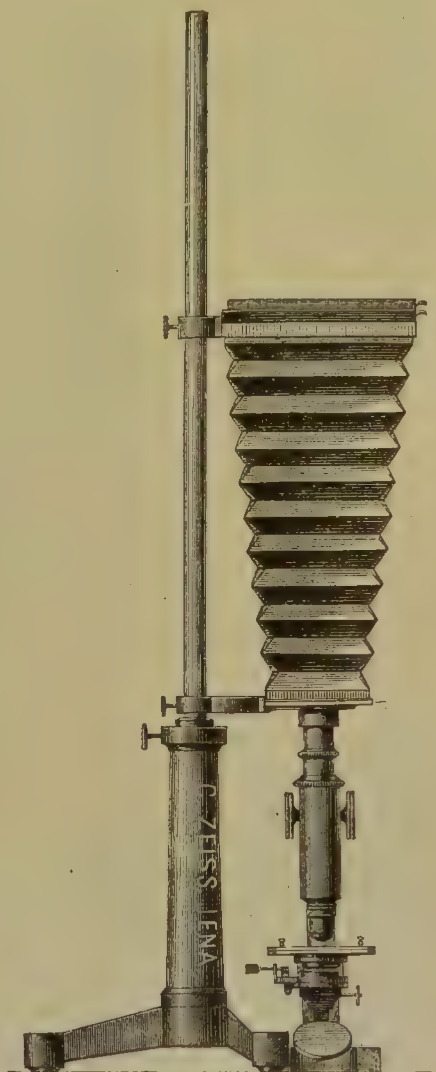


Fig. 40. — Petit appareil photographique vertical (Zeiss).

Appareils à stérilisation à air sec. — Le plus simple est une petite étuve, en tôle ou en cuivre rivés, de forme carrée ou rectangulaire, dont un des côtés fait porte (fig. 41). Les dimensions de 30 centimètres de hauteur sur 20 centimètres de largeur et de profondeur suffisent amplement. L'appareil peut être rapidement porté à une température de 150° environ, au moyen d'un fort bec à couronnement. Ces étuves se fabriquent facilement partout. Les constructeurs en vendent à doubles parois, dans lesquelles la chaleur se répartit bien plus uniformément et se maintient plus régulière (fig. 42); mais ici de légères variations n'ont aucune importance. Le stérilisateur à air chaud est un des instruments les plus couramment employés ; il sert journellement à porter à une haute température, de 150° à 200°, la verrerie, les scalpels, pinces, ciseaux, l'ouate, etc.

Le même résultat s'obtient avec le *four à flamber* de Pasteur construit par la maison Lequeux (fig. 43). C'est un fourneau en tôle, chauffé extérieurement par un fort brûleur, dans lequel on peut suspendre un panier en toile métallique, contenant les différents objets à soumettre à la haute température.

(1) Parmi les maisons qui fabriquent tous ces appareils pour les laboratoires de bactériologie, on doit surtout citer les suivantes : Wiesnegg, Lequeux successeur, 84, rue Gay-Lussac, Paris ; Adnet, 26, rue Vauquelin, Paris ; Lautenschläger, 54, Oranienburger Strasse, Berlin ; R. Muencke, 58, Luisenstrasse, Berlin. Les catalogues sont généralement envoyés sur demande.

Il n'est pas nécessaire d'adapter des régulateurs à ces appareils où les

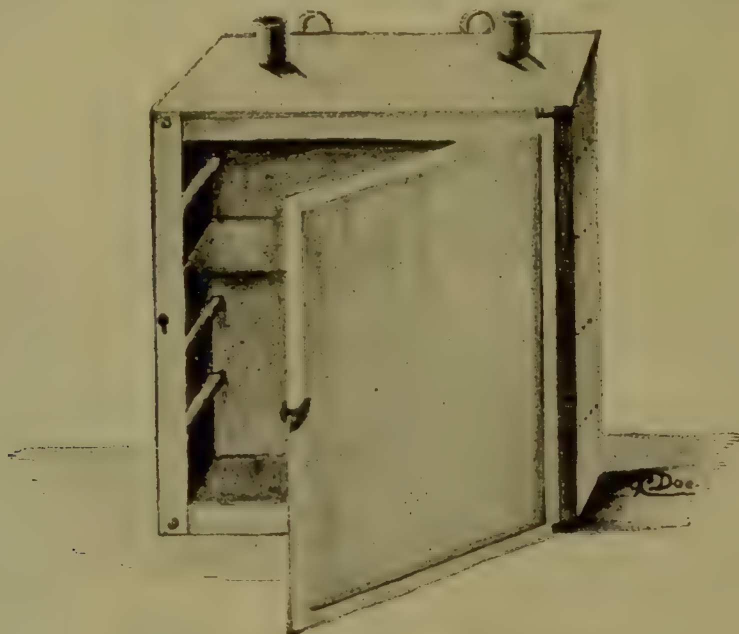


Fig. 41. — Appareil à stérilisation à air sec.

variations de température ne sont pas nuisibles, pourvu que le degré reste assez élevé. Il est toujours prudent de s'assurer de la température, à l'aide d'un thermomètre fixé dans un orifice spé-

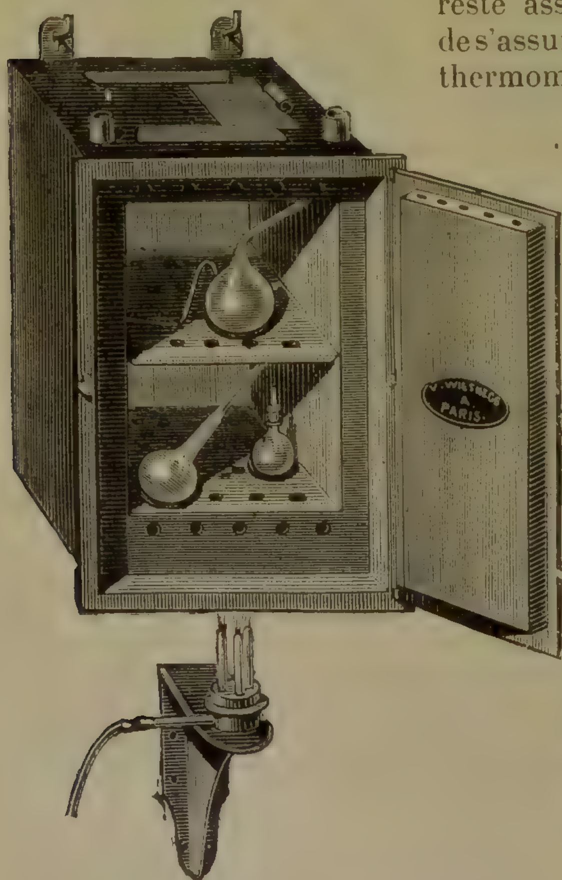


Fig. 42. — Stérilisateur à air chaud.

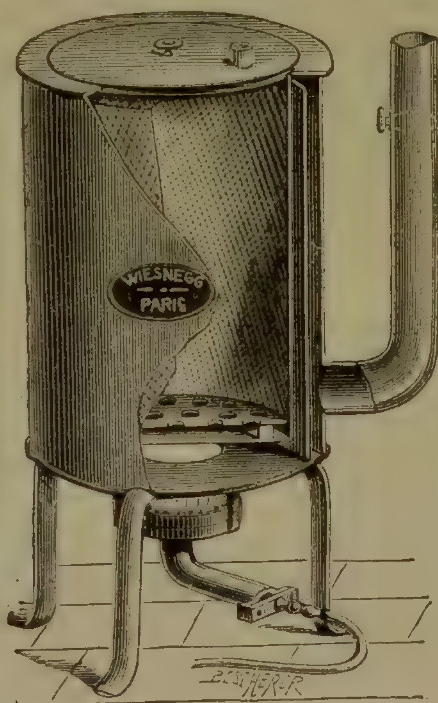


Fig. 43. — Four de Pasteur pour flamber les ballons.

cial que doivent présenter ces instruments dans leur partie supérieure.

On peut se servir, pour apprécier le degré de chauffe d'un de ces

stérilisateurs, d'un tampon d'ouate qu'on place à côté des objets à stériliser. La chaleur doit être poussée jusqu'à ce que l'ouate roussisse légèrement, ce qui indique une température de 170° environ.

Appareils à stérilisation à vapeur. — Les objets sont maintenus dans une atmosphère de vapeur d'eau, fournie par une masse de liquide placée à la partie inférieure de l'appareil. Cette vapeur peut se trouver à la pression normale ; un thermomètre placé dans son intérieur marque alors exactement 100 degrés. Ou bien elle peut se dégager sous pression ; sa température est alors d'autant plus élevée que la pression est plus forte.

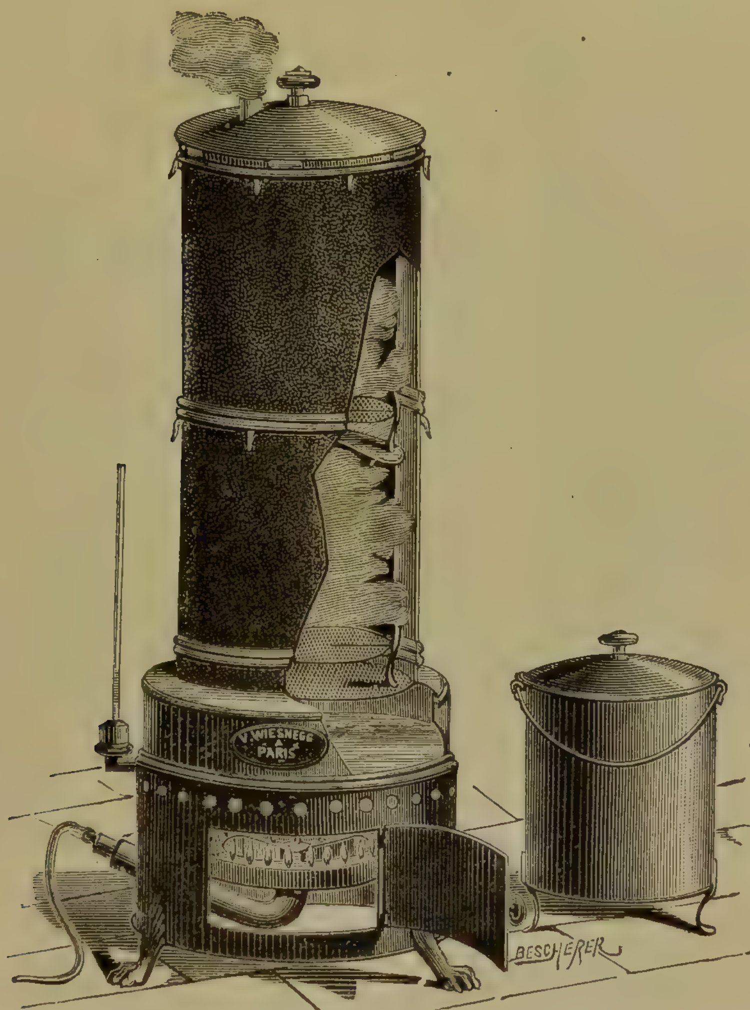


Fig. 44. — Stérilisateur à vapeur de Koch.

Le type des appareils de la première catégorie est le *stérilisateur à vapeur* de Koch (fig. 44). C'est un cylindre en fer-blanc, recouvert d'une couche épaisse de feutre, dont la partie intérieure, qui est fermée par un grillage, est soudée à une petite chaudière en cuivre rouge pouvant contenir 2 à 3 litres d'eau. La chaudière est munie latéralement d'un tube à niveau, indiquant la hauteur de l'eau dans son intérieur. Le cylindre en fer-blanc se ferme supérieurement par un couvercle, muni d'une tubulure pour le thermomètre et portant trois arrêts qui l'empêchent d'obturer hermétiquement l'orifice. On dispose les objets à

l'intérieur dans un panier en treillis. La chaudière est chauffée avec un fort bec à couronnement ou avec une couronne de petits becs brûlant à bleu, qui mettent rapidement l'eau en ébullition. Le cylindre se remplit de vapeur d'eau, qui garde la pression normale, grâce aux interstices du couvercle par où elle peut se dégager. L'enveloppe de feutre empêche le refroidissement. Aussi le thermomètre, qui marque 100° dès que la vapeur sort du pourtour du couvercle, reste-t-il fixe à cette température tant que dure l'ébullition. On verse de l'eau dans la chaudière jusqu'à 1 ou 2 centimètres du grillage qui sépare la chaudière du cylindre. Cette quantité est suffisante pour fournir de la vapeur pendant le temps que doit marcher l'appareil, une heure et demie à deux heures en moyenne. On suit du reste l'abaissement du niveau du liquide à l'aide du tube latéral. Il ne faut jamais, naturellement, laisser la chaudière chauffer à sec.



Fig. 45. — Stérilisateur à vapeur fluente à 100 degrés.

La figure 45 représente un autre type de stérilisateur à vapeur à 100°, avec niveau constant. La quantité d'eau à chauffer, bien moindre que dans le modèle précédent, permet d'opérer plus rapidement et avec moins de dépense, au moyen d'un seul bec.

Le plus commode des appareils à stérilisation à l'aide de la vapeur d'eau *sous pression* est l'*autoclave* de Chamberland (fig. 46 et 47). C'est une marmite de Papin perfectionnée. Il se compose d'une chaudière en

cuivre rouge brasé, sur laquelle se fixe, à l'aide de fortes vis de pression, un couvercle en cuivre massif muni de trois orifices. L'un des orifices donne issue au tube d'un manomètre ; un second est muni d'un robinet ; le troisième porte une soupape de sûreté. La chaudière est supportée par un fourneau à enveloppe de tôle, muni de deux couronnes de forts brûleurs. Le manomètre est gradué de 0 à 2 atmosphères et porte en regard des indications de pression les indications thermomé-

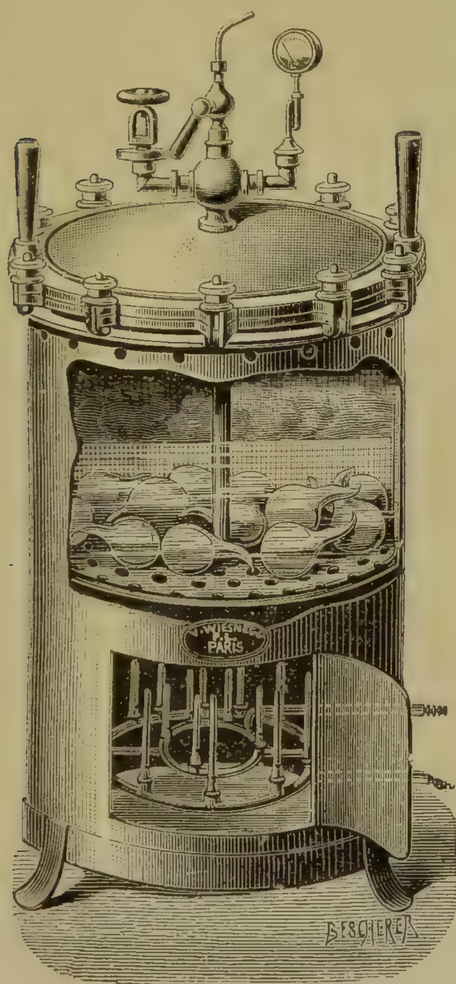


Fig. 46. — Autoclave de Chamberland.

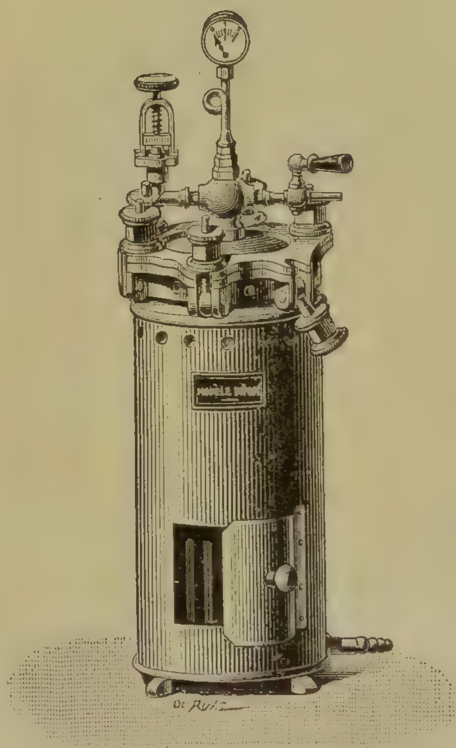


Fig. 47. — Autoclave Chamberland.

triques correspondantes. L'appareil est des plus faciles à mettre en marche. On dispose les objets à soumettre à la température voulue, 115° par exemple, dans un panier en toile métallique, qui se place dans la chaudière en laissant à la partie inférieure un espace vide. On verse de l'eau dans la chaudière presque jusqu'au niveau du fond du panier, on place celui-ci garni et on couvre. Pour obturer complètement l'interstice qui existe entre la chaudière et son couvercle, on interpose un boudin de caoutchouc et on serre modérément les vis de pression à l'aide d'une clef. On allume une ou deux couronnes du fourneau, et bientôt l'eau qui se trouve dans la partie inférieure de la chaudière entre en ébullition. Il est nécessaire d'ouvrir le robinet du couvercle dès qu'on allume, de façon à laisser échapper l'air qui pourrait nuire au bon fonctionnement ; cet air, en se dilatant, actionnerait le mano-

mètre en même temps que la vapeur, l'indication de température donnée par le manomètre ne serait pas exacte. Dès qu'il en sort un petit jet de vapeur, on le ferme. Il est alors très simple, en observant le manomètre, de régler à peu près l'autoclave à la température que l'on veut atteindre. On y arrive en diminuant la chauffe et avec la soupape de sûreté, en reculant ou en avançant le contrepoids selon que la température est trop élevée ou trop basse. Si la température montait trop, en ouvrant le robinet et en laissant partir une certaine quantité de vapeur, il est facile de la faire rapidement descendre.

Il peut être très utile de connaître, pour l'usage de ces appareils à vapeur sous pression, les rapports qui existent entre la température et la pression. Ils sont exprimés dans le tableau suivant, établi par Dulong et Arago :

ATMOSPHÈRES.	TEMPÉRATURE.	ATMOSPHÈRES.	TEMPÉRATURE.
1	100°	8	172°1
1,5	112°2	9	177°1
2	121°4	10	181°6
2,5	128°8	11	186°03
3	135°1	12	190°
3,5	140°6	13	193°7
4	145°4	14	197°19
4,5	149°6	15	200°48
5	153°08	16	203°60
5,5	156°8	17	206°57
6	160°2	18	209°4
6,5	163°48	19	212°1
7	166°5	20	214°7
7,5	169°37		

En laissant le robinet du couvercle ouvert, l'appareil fonctionne comme le stérilisateur de Koch. La température intérieure reste fixe à 100° sous pression normale.

Comme appendice, en quelque sorte, nous devons placer ici les *bains-marie* ordinaires ou à température plus élevée.

Le *bain-marie* ordinaire est un des appareils les plus utiles et les plus employés. Les constructeurs en vendent en cuivre rouge brasé, munis de rondelles de différentes grosseurs. On peut sans inconvénients les remplacer par de simples marmites de toute taille et de forme que l'on jugera convenable. Les objets qu'il faut immerger seront maintenus dans le liquide par des contrepoids ou des supports à pinces.

Pour obtenir des températures plus élevées, on se sert de bains d'huile ou de solutions salines. Avec des solutions saturées de divers sels, on obtient les températures suivantes :

Carbonate de soude	104°6
Chlorure de sodium	109°7
Azotate de potasse	115°9
Carbonate de potasse	135°
Chlorure de calcium	179°5

Les huiles grasses peuvent supporter une température de 250° sans s'altérer ; elles n'entrent en ébullition que notablement au-dessus.

Wiesnegg a construit, d'après les données de Pasteur, un bain-marie

à chlorure de calcium (fig. 48). C'est une chaudière en cuivre rouge brasé, munie d'un support intérieur spécial, qui sert à fixer les ballons remplis de bouillon à stériliser, et les empêche de se heurter pendant l'ébullition. Des pertes nombreuses par accidents et l'emploi très limité de l'appareil, lui font préférer ceux décrits précédemment.

Appareils à température constante. — ÉTUVES A RÉGULATION DIRECTE. — De nombreuses espèces de Bactéries demandent, pour fournir une végétation abondante, une température plus élevée que celle des chambres ou des laboratoires, sujettes à de trop grands écarts, du reste, dans ses variations diurnes et nocturnes. Quelques-unes, des pathogènes surtout, ne se développent qu'à une température assez haute, voisine de la normale du corps de l'hôte où elles vivent en parasite. Il est nécessaire, alors, de porter les cultures à un degré donné, degré qui doit être fixe, ou à peu près, et maintenu continuellement jour et nuit, si l'on ne veut pas avoir d'irrégularité dans le développement.

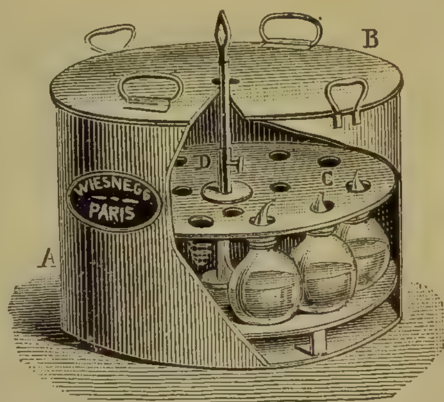


Fig. 48. — Bain-marie à chlorure de calcium de Pasteur.

La disposition la plus commode pour les laboratoires est l'installation d'une *chambre-étuve* de dimensions assez grandes pour qu'un homme puisse s'y mouvoir à l'aise dans l'espace laissé libre. Ce sont de véritables petites chambres, bien fermées, à doubles parois, chauffées par un appareil à thermosiphon muni d'un régulateur convenable, tel que le régulateur de Roux (Voy. p. 156). Des rayons de bois, fixés au mur, permettent de disposer d'un grand espace pour les cultures ordinaires ou pour des dispositions exigeant une grande place. Le prix d'une telle installation est souvent un obstacle sérieux à son emploi.

On se sert d'habitude d'*étuves* se réglant automatiquement, une fois portées à la température voulue. Autour de la cavité centrale de ces appareils, se trouve un intervalle de grandeur variable rempli d'air ou d'eau. Le fluide, en s'échauffant, sert de volant de chaleur, répartit uniformément la température et empêche un refroidissement trop rapide, soit par rayonnement, soit par déperdition directe, lorsqu'on ouvre l'étuve. De plus, c'est l'échauffement ou le refroidissement de la masse d'air ou d'eau qui agit directement sur les divers régulateurs adaptés à l'appareil.

Les grandes étuves construites sur le modèle de l'*étuve de Pasteur* répondent à tous les besoins d'un laboratoire. Ce sont de grandes armoires en bois (fig. 49 et 50), de $1^m,15$ à $1^m,30$ de haut sur $0^m,70$ de large et $0^m,40$ de profondeur, à double porte vitrée, pour éviter une trop grande déperdition de chaleur.

L'armoire est divisée en un certain nombre de compartiments, qui sont inégalement chauffés, puisqu'ils sont à des distances différentes de la source de chaleur. La température, qui va en décroissant vers la partie supérieure, présente une différence de 2 degrés environ par

étage. Cet avantage permet d'avoir des cultures à des températures différentes.

La paroi interne est formée d'une série de tubes de cuivre, disposés verticalement à une petite distance du bois et dans lesquels passent tous les produits de combustion dégagés par es brûleurs placés au-

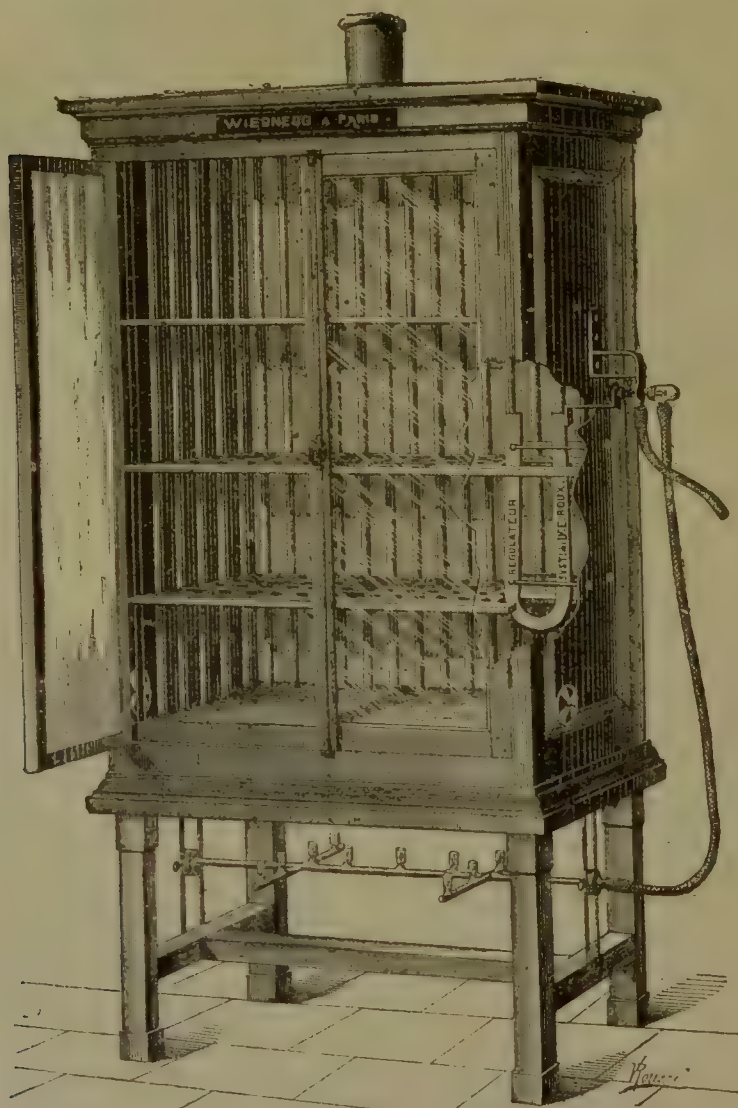


Fig. 49. — Étuve de Pasteur, modifiée par Roux (grand modèle).

dessous de l'étuve. Une cheminée, disposée en haut, recueille ces gaz et les conduit au dehors.

Le régulateur, très spécial, imaginé par Roux (fig. 51 et 52), se compose de deux lames, l'une de zinc, l'autre d'acier, soudées ensemble et recourbées en forme d'U. La branche de gauche est fixe, l'autre se meut suivant les variations de la température. Au moyen d'une tige rigide, elle transmet ses mouvements à un piston d'admission du gaz placé extérieurement ; une vis V, rivée à l'extrémité de la tige de transmission, permet de faire varier la longueur de celle-ci et, par suite, le réglage.

Lorsque la température s'élève dans l'étuve, la branche mobile de l'U, R, se rapproche de la branche fixe, emmenant avec elle la tige

rigide qui s'éloigne du piston. Ce dernier, sollicité par un ressort à boudin placé dans son intérieur (fig. 51), réduit proportionnellement l'accès du gaz au brûleur. La température s'abaisse, le phénomène inverse se produit et, après quelques oscillations semblables, l'étuve est définitivement réglée.

Pour faire varier en plus ou en moins la température, il suffit d'aug-

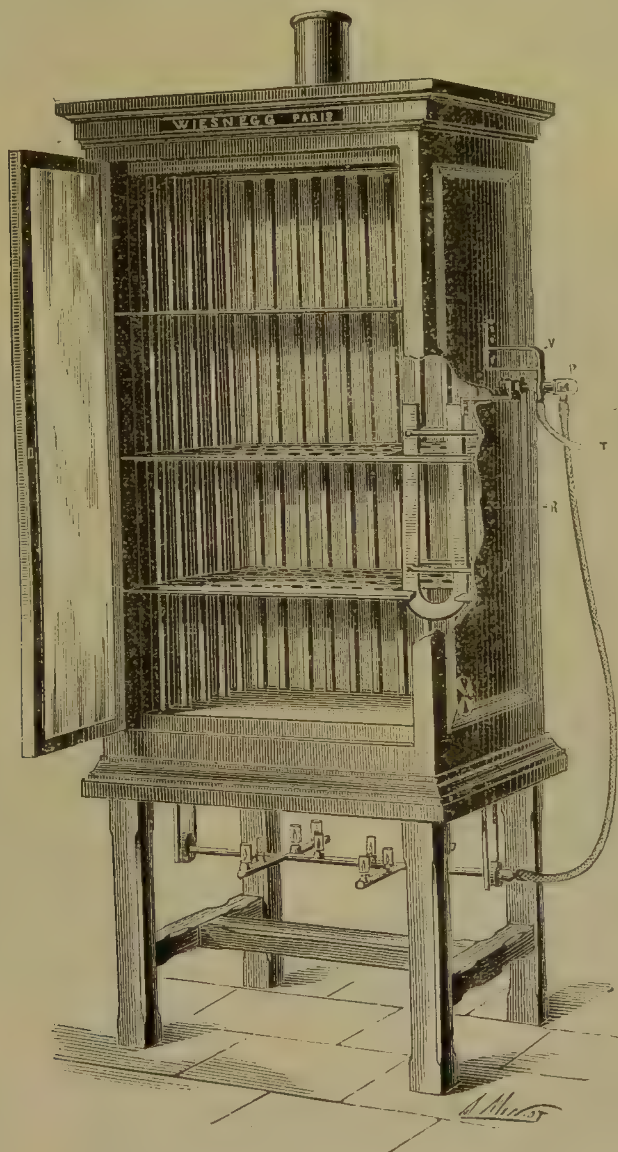


Fig. 50. — Étuve de Pasteur modifiée par Roux (petit modèle).

menter ou de diminuer la longueur de la tige en tournant ou détournant la vis V qui règle l'amenée du gaz en déterminant une plus ou moins grande obturation du tube d'amenée C (fig. 51). C'est sur cette même vis qu'agit le régulateur bimétallique par sa branche libre à laquelle elle est réunie.

Le prix assez élevé (500 francs et au-dessus), et les dimensions souvent trop grandes de ces appareils leur font préférer des modèles plus petits, dont le premier en ligne, comme régularité et précision, est sans contredit l'*étuve à régulateur direct* de d'Arsonval (fig. 53). Voici

la description de l'appareil, d'après l'excellente *Notice sur les appareils de chauffage employés dans les laboratoires*, publiée par la maison Lequeux.

« L'appareil se compose de deux vases cylindro-coniques concentriques limitant deux cavités : l'une centrale qui est l'enceinte qu'on veut maintenir constante, l'autre annulaire que l'on remplit par la douille (fermée par le tube 3 dans la figure) et qui constitue le matelas liquide soumis à l'action du foyer. Ce matelas d'eau distribue régulièrement la chaleur autour de l'enceinte et l'empêche de subir de brusques variations de température.

« La paroi externe de l'étuve porte une tubulure latérale 2 qui, com-

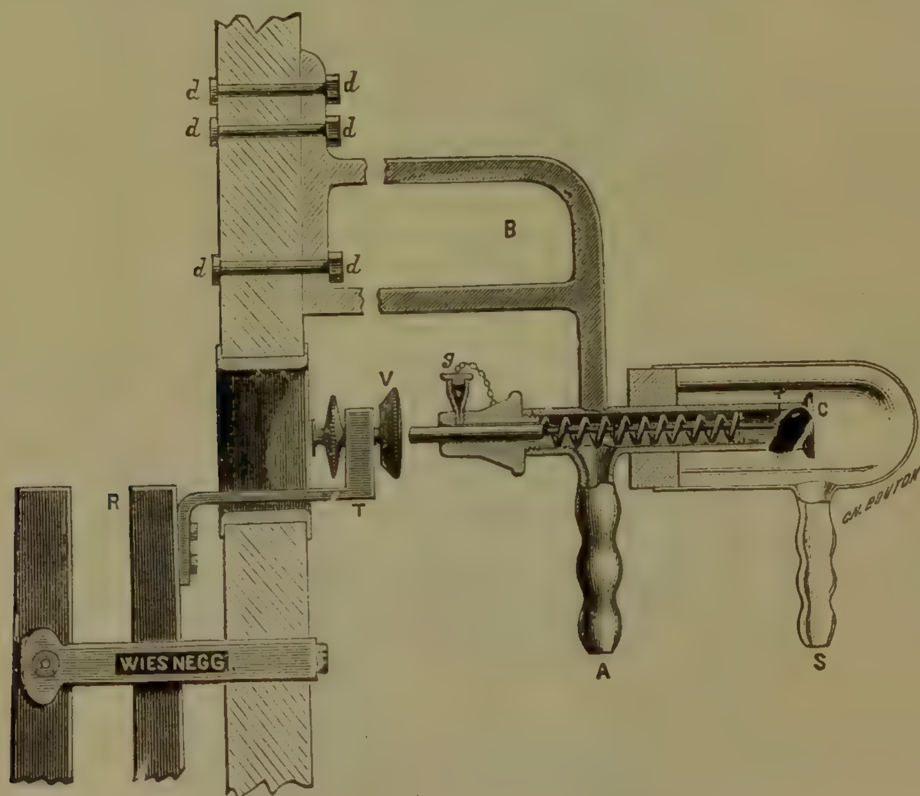


Fig. 51. — Régulateur métallique de Roux.

muniquant avec l'espace annulaire, se trouve fermée à l'extérieur par une membrane verticale de caoutchouc qui constitue, lorsque l'appareil est clos, la seule portion de paroi qui puisse traduire à l'extérieur, et en les totalisant, les variations de volume du matelas d'eau. Or, le gaz qui doit aller au brûleur est amené par un tube 4, qui débouche normalement au centre de cette membrane et à une faible distance de sa surface externe, dans l'intérieur d'une boîte métallique 7, d'où il ressort par un autre orifice 5 qui le conduit au brûleur 6. Tube et membrane constituent de la sorte un robinet très sensible, dont le degré d'ouverture est sous la dépendance des variations de volume du matelas d'eau, et qui ne laisse aller au brûleur que la quantité de gaz strictement nécessaire pour compenser les causes de refroidissement.

« Dans cette combinaison, le combustible chauffe *directement* le régulateur qui, à son tour, réagit *directement* sur le combustible ; ainsi se

trouve justifiée l'épithète appliquée à ces régulateurs, qui ne peuvent être lents à régler.

« Le maniement de l'appareil se fait de la façon suivante :

« 1° On remplit d'eau bouillie, et par conséquent privée d'air, l'espace annulaire 1, en ouvrant la douille du haut. Ce remplissage est fait une fois pour toutes.

« 2° On met dans cette douille un thermomètre *qui ne la bouche pas* et laisse l'écoulement libre pour l'eau provenant de la dilatation ;

« 3° On ajoute les tubes de caoutchouc (le tube 4 est réuni au bec

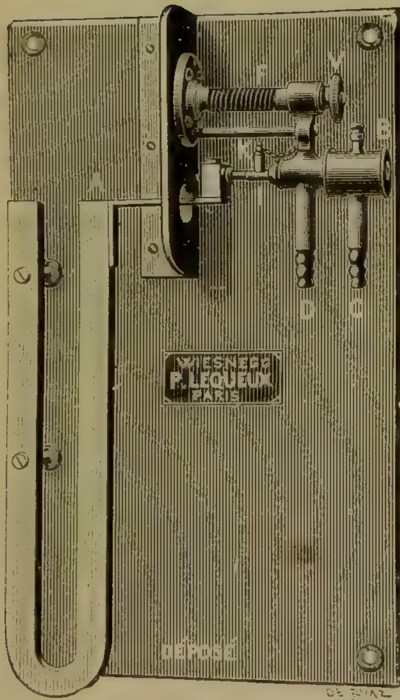


Fig. 52. — Régulateur Roux nouveau modèle monté sur panneau en fer pour chambre-étuve.

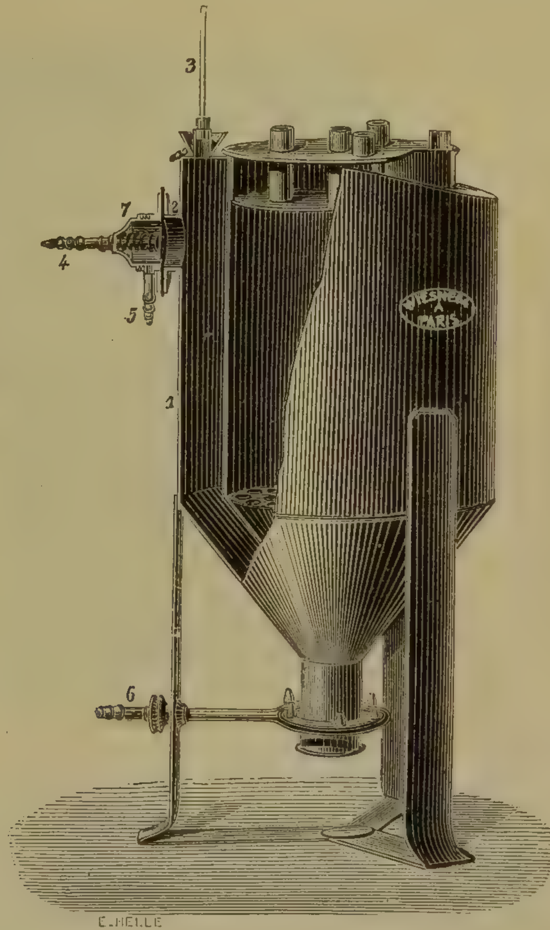


Fig. 53. — Étuve de d'Arsonval à régulateur direct, ancien modèle.

d'arrivée du gaz, le tube 5 est réuni au 6), on allume le brûleur 6 et on dévisse légèrement le tube 4 si le gaz ne passe pas ;

« 4° Quand le thermomètre marque la température voulue, on l'enlève et on le remplace par le bouchon qui porte le tube de verre, sans toutefois oublier de remplir avec un peu d'eau la cavité laissée vide par la suppression du thermomètre.

« L'appareil se trouve définitivement réglé pour cette température, et voici par quel mécanisme : le tube 4, qui amène le gaz, porte un petit disque mobile qui, s'appliquant sur la membrane, tend sans cesse à l'éloigner de l'orifice d'entrée du gaz, grâce à l'élasticité d'un petit ressort à boudin. Tant que la douille du haut est ouverte, l'eau prove-

nant de la dilatation s'écoule au dehors, et, le gaz continuant d'affluer au brûleur par la tubulure 5, la température s'élève d'une façon continue : mais lorsqu'on met le bouchon surmonté du tube 3, l'eau provenant de la dilatation, au lieu de se perdre, monte dans le tube de verre, et cette colonne d'eau exerce sur la membrane une pression de plus en plus forte qui, surmontant graduellement l'élasticité du ressort à

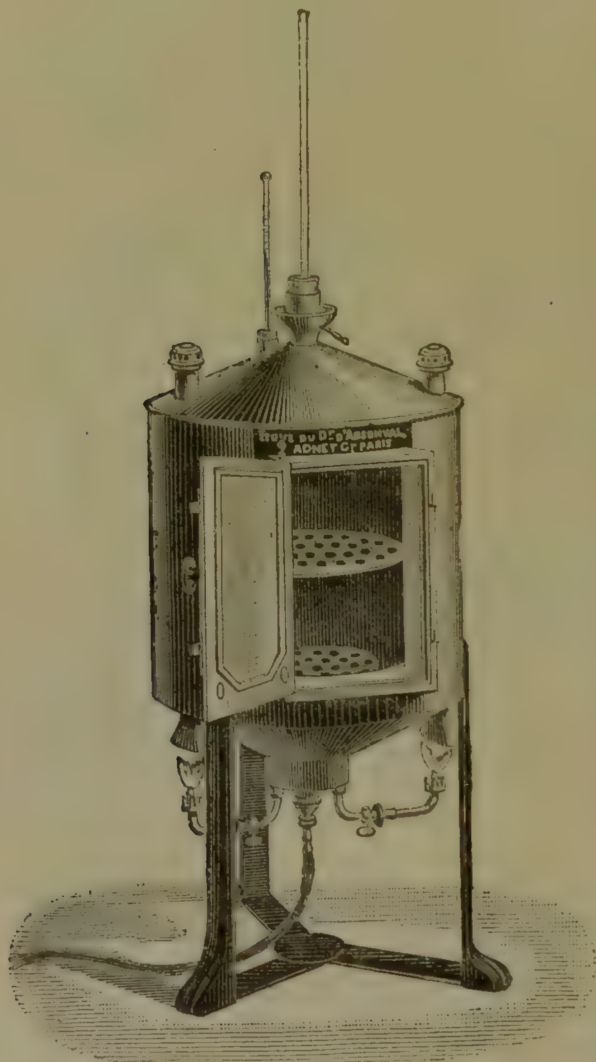


Fig. 54. — Nouvelle étuve auto-régulatrice de d'Arsonval.

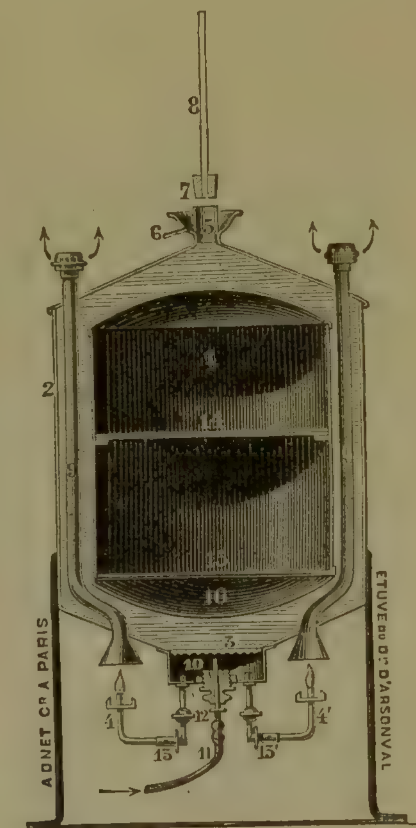


Fig. 55. — Coupe de la même étuve.

boudin, rapproche de plus en plus la membrane de l'orifice d'arrivée du gaz, dont le passage se trouve ainsi réglé.

« Si, au moment du réglage, la flamme ne baissait pas, malgré l'élévation de la colonne d'eau dans le tube de verre, cela prouverait que l'orifice d'arrivée du gaz est trop loin de sa membrane ; on visserait le tube 4 jusqu'à ce qu'on vît baisser la flamme ; un contre-écrou sert à fixer ce tube dans la position choisie.

« L'appareil, ainsi réglé, retombe à la même température, au rallumage.

« Cette disposition est très commode, en ce sens que l'appareil est

réglé une fois pour toutes. Les personnes qui voudraient utiliser toute la sensibilité de l'appareil peuvent supprimer le tube de verre et boucher hermétiquement la douille. Seulement, il ne faut pas oublier *de la déboucher* lorsqu'on éteint le gaz, pour permettre à l'air de rentrer lorsque l'eau se contracte par le refroidissement. »

Comme facilité de réglage et fixité de la température, l'étuve de d'Arsonval donne toute satisfaction. La cavité interne en est malheureusement trop étroite et la partie utilisable de cet espace est encore réduite par la forme en cylindre allongé et la disposition supérieure de

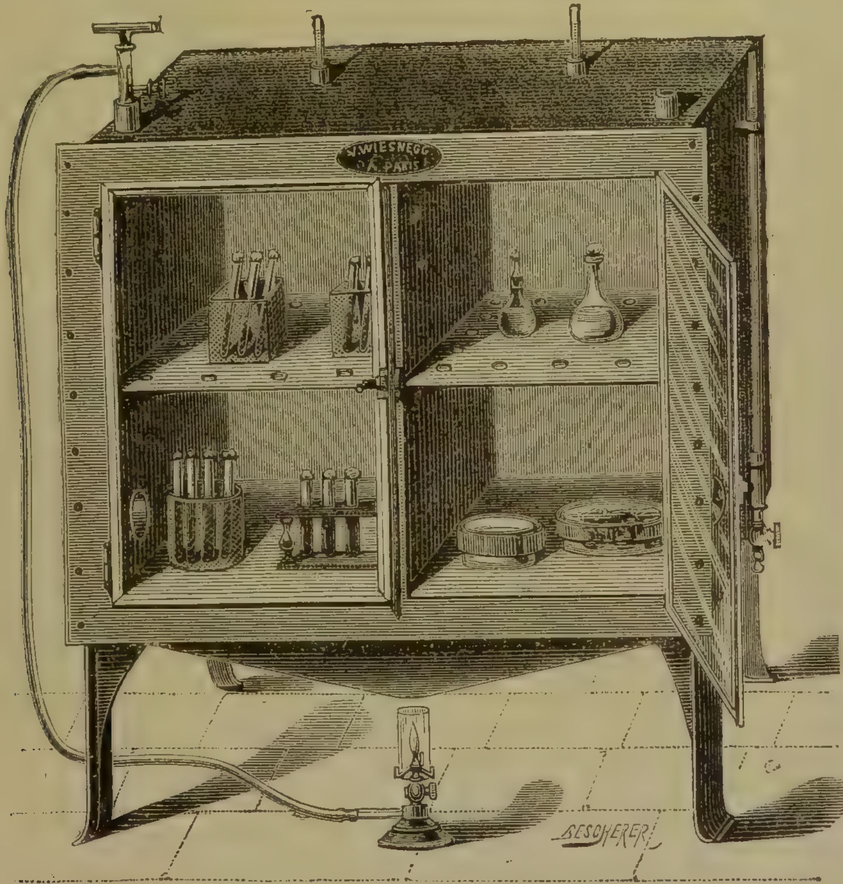


Fig. 56. — Grande étuve, modèle Babès, à deux compartiments.

l'ouverture. Pour se servir de toute cette cavité, on est forcé d'étager les cultures, ce qui occasionne souvent des accidents. Pour obvier à ces inconvénients, cette étuve a été modifiée de façon à s'ouvrir latéralement par une porte transparente à double verre, comme le représente la figure 54. Il est possible, avec ce modèle, de disposer d'une partie beaucoup plus grande de la cavité interne et de se rendre compte, de l'extérieur, de ce qui se passe au dedans. Comme l'indique la coupe représentée (fig. 55), le chauffage du matelas d'eau se fait par deux cheminées métalliques qui traversent le liquide dans toute sa hauteur ; ce qui utilise presque toute la chaleur employée. Le maniement de l'étuve est le même que celui du modèle précédent. Comme cette étuve possède un régulateur entièrement métallique où la membrane de caoutchouc des appareils précédents est remplacée par une membrane métallique très

souple, il est possible de la régler pour des températures bien supérieures à celle que l'on obtient avec les étuves précédentes à régulateur à membrane de caoutchouc ; on peut arriver facilement à 100° et même au-dessus en se servant de liquide autre que l'eau comme matelas.

Lorsque ces étuves doivent fonctionner longtemps, il est à recommander de verser dans le tube qui sert au réglage quelques gouttes d'huile pour empêcher l'évaporation d'une petite quantité d'eau pouvant modifier le réglage.

Les étuves carrées ou quadrangulaires, comme l'étuve Pasteur décrite plus haut, sont d'un maniement commode et pratique. La maison Lequeux en construit d'excellents modèles, établis d'après celui que Muenke (de Berlin) a fabriqué sur les données de Babès. La figure 56 représente une grande étuve de cette forme, à deux compartiments séparés par une cloison mobile. C'est, comme dans l'étuve de d'Arsonval, une épaisse couche d'eau qui entoure la cavité centrale de tous côtés, sauf de l'antérieur. La porte est formée de deux lames de verre entre lesquelles il existe une couche d'air de 2 millimètres d'épaisseur ; de ce côté, la déperdition de chaleur est insignifiante. Le corps de l'étuve est en fer-blanc ou, mieux, en cuivre, recouvert de feutre. On remplit d'eau la cavité périphérique par une des tubulures supérieures ; un tube à niveau indique la hauteur du liquide. C'est aussi cette masse d'eau qui sert à emmagasiner et à maintenir la chaleur, et à régler la chauffe en agissant sur le régulateur.



Fig. 57. — Régulateur à mercure.

Le régulateur à membrane de caoutchouc de d'Arsonval s'applique difficilement aux étuves à parois planes, car, sous l'influence de l'élévation de la colonne d'eau dans le tube de verre, les parois se gonflent et enlèvent par suite toute préc sion à l'appareil. On peut cependant y arriver en enfermant la masse d'eau, qui constitue le corps dilatable agissant sur la membrane, dans un tube roulé en serpentin et plongé lui-même dans l'eau formant la masse chauffante de l'étuve. Ce serpentin aboutit au régulateur ordinaire avec tube de verre semblable à celui de l'étuve cylindrique. Il est plus simple et tout aussi certain de se servir de régulateurs à mercure, ou du nouveau régulateur de d'Arsonval, représenté figure 59. La figure 57 représente le modèle de régulateur en verre que Lequeux joint à ses étuves de cette dernière forme. L'usage en est des plus simples. Il est fondé sur la dilatation du mercure par la chaleur. Le mercure, en se dilatant, monte dans le tube qui le contient et vient obturer plus ou moins complètement l'orifice inférieur du tube A, par où arrive le gaz ; la quantité de gaz qui passe par cet orifice est proportionnelle à sa grandeur. Le gaz sort par la tubulure B et va au brûleur. On commence par expulser tout l'air qui peut diviser la colonne de mercure en chauffant légèrement le réservoir à la flamme d'un bec de Bunsen, puis on plonge la partie inférieure du régulateur dans l'eau de l'étuve par une des tubulures supérieures où il est fixé par un bouchon qu'il traverse. A l'aide de la vis latérale V, qui commande

un petit réservoir de mercure, on amène la surface de celui-ci à affleurer presque l'orifice inférieur du tube A. Il passe par cet orifice une certaine quantité de gaz qui sert à échauffer la masse d'eau par sa partie inférieure.

Le régulateur de Schlœsing (fig. 58), basé aussi sur la dilatation du mercure, est surtout applicable pour les hautes températures, pour les stérilisateurs à air chaud, par exemple. Le réglage se fait en enfonçant plus ou moins l'extrémité O du tube d'acier dans le mercure, ce qui se fait en vissant le haut. Le dispositif en H, qui se voit à côté, sert à laisser passer une très petite quantité de gaz pour éviter l'extinction lorsque la température s'élève vite.

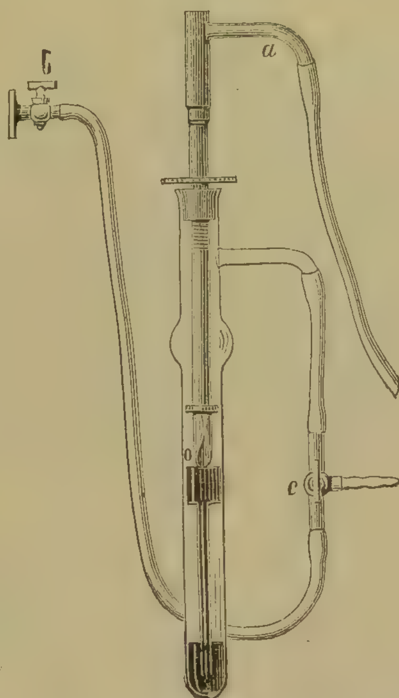


Fig. 58. — Régulateur de Schlœsing.

On débute en donnant une flamme assez grande pour que l'élévation de température soit plus rapide. Il est du reste facile de hâter l'échauffement en remplaçant une partie de l'eau froide par de la chaude ou en s'aidant de becs supplémentaires. Lorsqu'un thermomètre placé dans l'eau indique le degré voulu, on diminue l'arrivée du gaz en faisant refluer du mercure dans la cavité du régulateur à l'aide de la vis V. Au bout de quelque temps de tâtonnement, on arrive à obtenir la température fixe que l'on désirait. L'étuve est alors réglée pour cette température, à laquelle elle se remettra seule si on allume de nouveau après l'avoir laissé refroidir. Le réglage ne s'opère plus seul, mécaniquement, comme dans le régulateur à membrane de caoutchouc, l'observateur règle lui-même ; mais, comme pour l'autre, le réglage, une fois établi, se maintient seul. Pour éviter l'extinction fortuite du bec, les constructeurs ont muni la branche A d'arrivée du gaz d'un petit orifice supérieur qui se voit dans la figure immédiatement au-dessus de la branche B. Cet orifice est destiné à laisser passer un mince filet de gaz qui se rend directement au brûleur par la branche B et doit suffire seul à maintenir le bec allumé en veilleuse. Ce dernier résultat doit être obtenu avant le réglage définitif. Pour y arriver, on obture complètement l'orifice inférieur du tube A, en faisant monter du mercure à l'aide de la vis V, et on tourne le tube A jusqu'à ce que la flamme du bec soit réduite à l'état de flamme de veilleuse. On fixe la branche A dans cette position à l'aide d'une goutte de cire fondue. On laisse arriver le gaz en baissant le mercure et on procède au réglage comme il est dit plus haut. Il est entendu que la branche A est reliée au robinet d'arrivée du gaz et la branche B au brûleur. Un seul bec suffit pour maintenir l'étuve aux températures habituelles, 30-37 degrés. Il faut user de becs spéciaux à très faible débit, dont on protège la flamme contre les courants d'air par une petite cheminée de verre, de mica ou même de métal.

D'Arsonval a imaginé un *régulateur entièrement métallique* bien supérieur à son régulateur à membrane de caoutchouc, qu'il remplace maintenant dans presque tous les cas. Une certaine quantité de liquide, en se dilatant ou se contractant suivant la température, agit sur une membrane métallique très souple, qui remplace la membrane de caoutchouc de l'ancien régulateur. Cette membrane obture plus ou moins l'orifice d'arrivée du gaz. L'appareil, le modèle mobile, est représenté figure 59.



Fig. 59. — Nouveau régulateur de d'Arsonval, à membrane métallique.

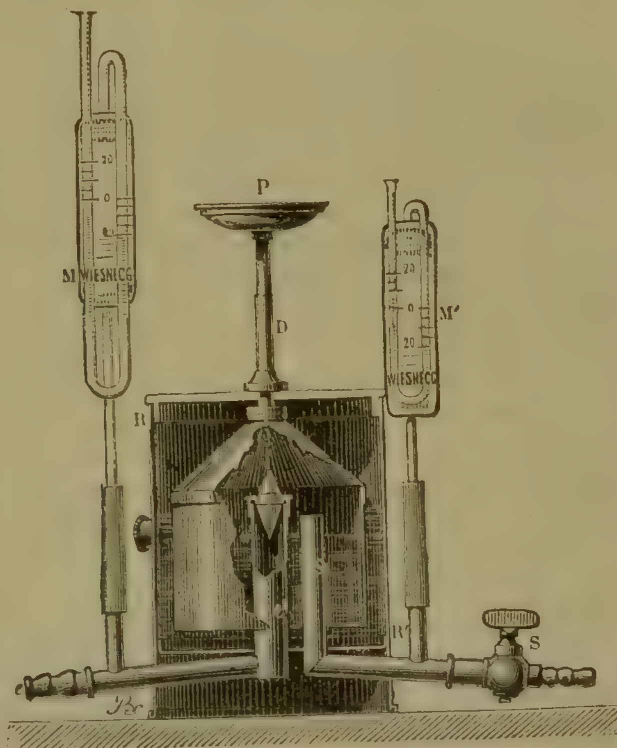


Fig. 60. — Régulateur de pression de Moitessier.

On remplit, par la petite cuvette 2, le tube 1 du liquide régulateur, pétrole ou huile d'olive. Ce liquide se dilate dès qu'on chauffe et vient se verser dans la cuvette 2. Lorsqu'on est à peu près arrivé à la température voulue, on ferme le réservoir au moyen du robinet à pointe 3. La quantité du liquide contenue dans le tube 1 subit une petite compression et exerce une action sur la membrane métallique située en 4. Au bout de quelque temps, si l'on remarque que la température est trop basse ou trop haute, on laisse sortir ou l'on fait rentrer une petite quantité de liquide. On obtient, après quelques tâtonnements, une température invariable.

Les variations de pression, qui se produisent dans les conduites de gaz, peuvent avoir des résultats défavorables sur le fonctionnement des brûleurs. Aussi, trouve-t-on avantage à interposer, entre le tube d'arrivée du gaz et l'appareil de réglage de l'étuve, un *régulateur de la pression*.

Le régulateur de pression Moitessier, construit par la maison Lequeux, remplit au mieux le but proposé (fig. 60). On le dispose comme sur la figure, en réunissant au robinet d'arrivée du gaz le tube dépourvu de

robinet. On enlève le couvercle en dévissant la coupe et on remplit d'eau glycérinée le réservoir jusqu'à l'affleurement de la petite tubulure latérale qui se voit à gauche. Deux manomètres latéraux complètent l'instrument. L'un, antérieur, indique les oscillations de la pression dans les conduites ; l'autre permet de vérifier la pression du gaz à sa sortie et de constater l'action du régulateur. Quant au réglage de la pression, il faut s'assurer de la pression minimum des conduites de la ville et se tenir au moins quelques millimètres en dessous ; on règle cette pression au moyen du second manomètre, en tarant la coupe avec de la grenaille de plomb.

Malgré toutes les précautions, l'extinction des brûleurs est à craindre. Il s'ensuit un dégagement de gaz, d'autant plus abondant que le régulateur en laisse, par refroidissement, passer une quantité relativement considérable. D'où possibilité d'explosion au contact d'une flamme.

Pour remédier à ce danger, Koch a fait construire des brûleurs spéciaux, se fermant automatiquement dès leur extinction. Deux lames métalliques, disposées en spirale, touchent la base de la flamme du bec. Lorsqu'on allume, ces spirales s'échauffent et subissent une torsion ; par refroidissement, elles se plient en sens inverse. C'est ce dernier mouvement qu'on utilise, en le faisant agir au moyen d'un levier, sur un robinet dont est muni le brûleur, qui se ferme en interceptant le passage du gaz. Par malheur, à un usage tant soit peu prolongé, les ressorts se détrempent et arrivent à ne plus fonctionner à un moment donné, lors de l'extinction du bec.

Muenke, constructeur de Berlin, a imaginé un système de fermeture automatique basé sur les oscillations d'un petit volume de mercure, déterminées par la dilatation plus ou moins grande d'une masse d'air. L'appareil se compose essentiellement d'un tube thermométrique à grand réservoir, courbé en son milieu en forme de V très ouvert. Ce tube est fixé par son coude sur un support, de manière à pouvoir facilement osciller à droite et à gauche, dans un parcours réduit à l'aide de buttoirs. On introduit du mercure dans l'appareil, de la façon habituelle, en ayant soin de laisser une assez grande quantité d'air dans le réservoir. On s'arrange pour qu'à la température ordinaire le mercure introduit fasse contrepoids du côté du réservoir et basculer le tube coudé en ce sens. En chauffant alors ce réservoir, l'air se dilate et chasse une partie du mercure dans la branche opposée ; l'équilibre se détruit, le V bascule dans une position inverse où il se maintient tant que, la température baissant, le mercure passe en quantité suffisante dans la branche du réservoir, par suite de la contraction de l'air que celui-ci renferme. Lorsque l'appareil marche, le réservoir est chauffé par un petit bec en veilleuse branché sur le tube qui conduit le gaz au brûleur ; le tube en V penche du côté opposé du réservoir, où le mercure est chassé par la dilatation de l'air de ce dernier. Si le brûleur vient à s'éteindre, il en est de même du petit bec placé sous le réservoir ; le mercure remonte dans ce dernier et fait basculer de son côté. Au moyen d'un système de leviers, ce mouvement ferme un robinet qui se trouve sur la conduite d'amenée du gaz.

Les accidents proviennent presque toujours de la rupture de tubes de caoutchouc destinés à relier le régulateur au robinet d'arrivée du

gaz et au brûleur. Aussi est-il à recommander de les remplacer, le plus qu'on peut par des conduites de métal, en n'usant de caoutchouc que pour les raccords indispensables, qui doivent être faits les plus courts possible et droits, de façon à éviter toute traction aux points d'union consolidés toujours à l'aide de liens en fil de cuivre.

Il est tout à fait à recommander, quand c'est possible, de disposer les étuves dans des cages communiquant avec l'extérieur par une cheminée.

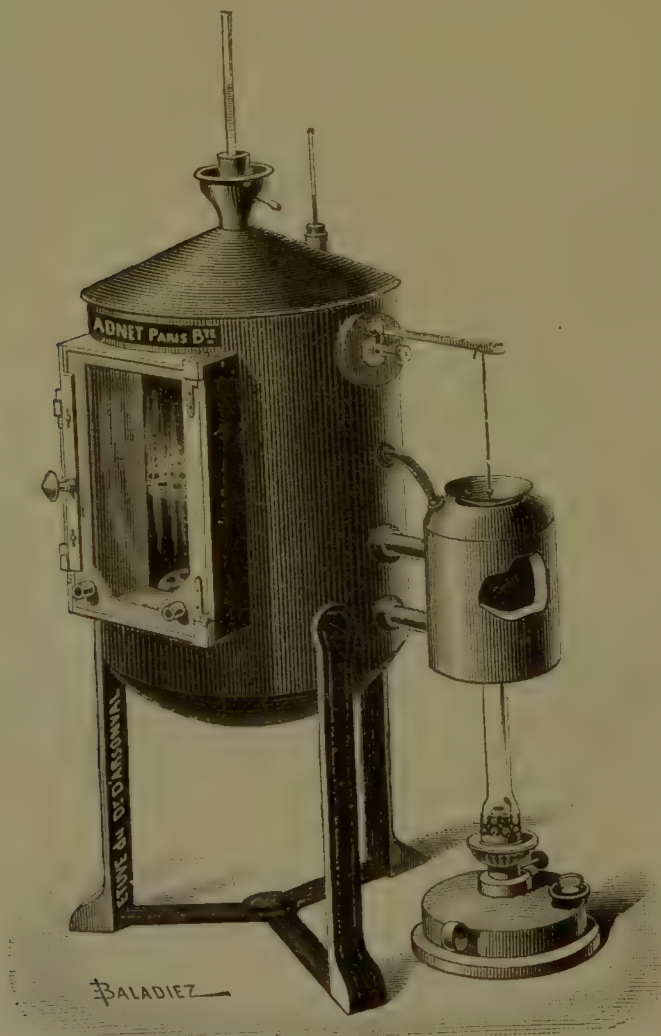


Fig. 61. — Étuve chauffée au pétrole.

Lorsqu'on fait fonctionner en même temps plusieurs étuves, il faut les isoler avec soin dans des cages spéciales ou dans des pièces différentes et n'en approcher de lumière que lorsqu'on s'est assuré que les becs brûlent. C'est le moyen le plus pratique de se mettre sûrement à l'abri des accidents. Les cages peuvent être construites en carrelages de porcelaine unis avec du ciment et fermés par une porte vitrée, ou, plus simplement, en tôle. Si le gaz vient à s'éteindre, il ne pénètre pas dans la pièce, mais est entraîné au dehors par la cheminée ; aucun accident n'est à craindre.

Lorsqu'on n'a pas le gaz à sa disposition, il peut être nécessaire d'user d'autres modes de chauffage. Il existe différents modèles d'étuves

chauffées au pétrole, donnant d'excellents résultats. La figure 61 représente un de ces modèles construit par Adnet. Le principe du réglage est le même que celui de l'étuve de d'Arsonval décrite précédemment (fig. 55). Le réglage s'obtient en laissant pénétrer plus ou moins le calorique produit par la lampe. La membrane régulatrice est influencée par l'eau, comme dans l'étuve à gaz, et agit sur le levier que l'on voit à gauche de la figure ; ce levier fait lever ou baisser un disque qui permet, suivant sa situation, un passage rapide ou lent de gaz chauds, et par conséquent une chauffe plus ou moins grande.

On peut aussi, comme l'indique Salomonsen (1), se servir, pour chauffer une étuve ordinaire, de plusieurs veilleuses flottant sur un large vase rempli d'eau aux deux tiers, puis d'une couche d'huile à brûler de 2 à 3 centimètres de hauteur; on cherche alors, par tâtonnements, à quelle distance du fond de l'étuve il faut placer les flammes, pour obtenir la température cherchée. La température obtenue n'est, il est vrai, jamais bien fixe, puisqu'il n'y a pas de compensations aux refroidissements du milieu ambiant, mais les écarts peuvent n'être que peu considérables et ne sont à prendre en sérieuse considération que lorsqu'il s'agit d'espèces ayant des besoins spéciaux sous ce rapport. On peut du reste y remédier en ajoutant une ou plusieurs veilleuses. Avec un peu de pratique, une telle disposition, peu coûteuse, peut rendre d'excellents services.

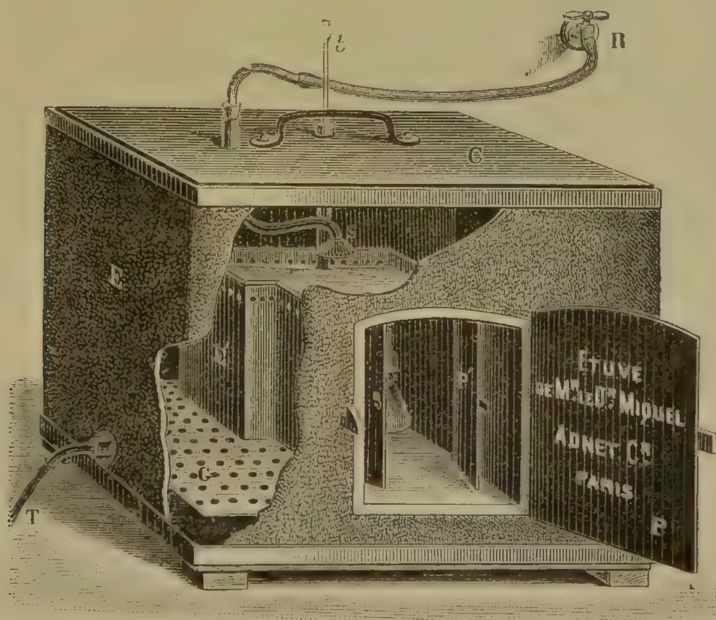


Fig. 62. — Étuve de Miquel.

Il peut être nécessaire d'user de températures plus basses que la température ambiante, en été par exemple, lorsqu'on veut maintenir des cultures à une température de 15° à 20° et que la température des locaux atteint souvent 30°. On y arrive à l'aide des armoires-glacières ordinaires, très usitées aujourd'hui dans les ménages, en réglant le refroidissement par un faible apport de glace. On peut aussi faire passer dans

(1) Salomonsen, Technique bactériologique, trad. française, p. 72.

la double paroi de l'étuve un courant d'eau dont la température ne dépasse pas 20° ; il est très facile d'adapter aux différents systèmes d'étuves un dispositif très simple qui conduise au but cherché.

Pour obtenir des températures basses, cultiver des microbes au-dessous de 10°, il faut employer la glace; les armoires-glacières se maintiennent facilement à ces températures.

Lorsqu'on a besoin de températures plus basses encore, 0° par exemple, on peut se servir très avantageusement de l'étuve-glacière imaginée par Miquel pour conserver à 0° les eaux destinées à l'analyse bactériologique. Cette étuve (fig. 62) est composée de deux boîtes concentriques, dont l'intérieure E' reçoit, par une porte latérale, les objets à conserver; l'extérieure E, plus grande, est revêtue d'un feutre isolant. La cavité comprise entre les deux est destinée à recevoir la glace; l'eau de fusion s'écoule par la partie inférieure à l'aide du tuyau T. Cette étuve peut également servir pour les températures entre 0° et 25°, en y faisant couler de l'eau de la canalisation. Cette eau, tombant par la pomme d'arrosoir S sur la boîte antérieure, y abaisse notablement la température.

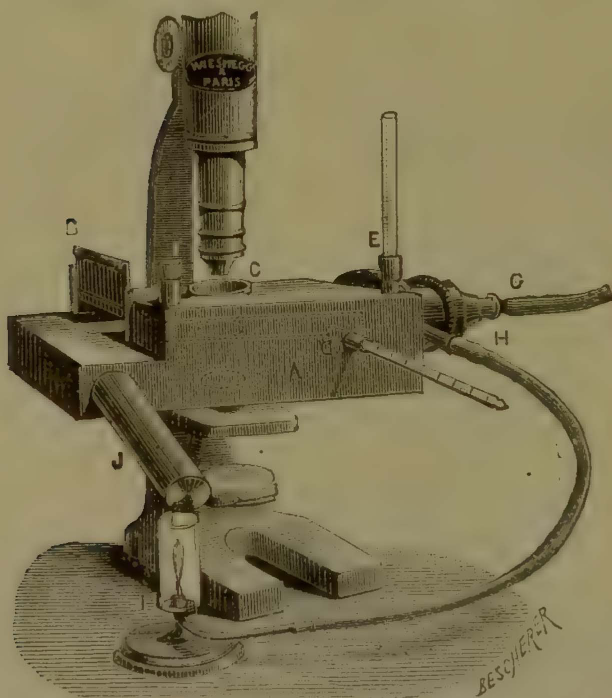


Fig. 63. — Chambre chaude de Vignal.

Lorsqu'on veut observer, sous le microscope, des Bactéries à des températures constantes et assez élevées, on doit s'adresser à des appareils spéciaux, permettant de maintenir la préparation au degré voulu, tout en la laissant observer. La platine chauffante de Ranvier est d'un bon usage, quand on peut la réunir à une étuve de l'un des modèles précédents dont on fait la source de chaleur. La *chambre chaude* de Vignal (fig. 63) est bien préférable (1). C'est une petite étuve de d'Arsonval, à manchon d'eau et à régulateur à membrane de caoutchouc, modifiée dans sa forme, afin de pouvoir être adaptée aux études microscopiques. Le réglage se fait comme celui de l'étuve ci-dessus décrite. Il est possible de se servir, avec cet appareil, de l'éclairage Abbé, grand avantage que n'a pas le modèle Ranvier. La préparation est introduite dans la cavité de l'étuve par la porte B que l'on soulève et qui est aussitôt remise en place. L'appareil peut rester à demeure sur le microscope, ou être placé sur un support de même hauteur, pendant le temps que doit

(1) Vignal, Chambre chaude à régulateur direct pour le microscope (*Arch. de phys.* 1885, n° 5).

durer l'observation. La température initiale se maintient sans varier, pendant un temps très long. Kraus (1) décrit un semblable appareil chauffé par l'électricité, qui, d'après lui, se réglerait avec une grande précision et se maintiendrait facilement à la température obtenue ; l'appareil est construit par la maison Reichert (de Vienne).

Pour de telles observations, Nuttall (2) a imaginé de placer le microscope entier dans une petite étuve spéciale qui ne laisse libre à la partie supérieure que le tube dans une partie de sa longueur et la vis micrométrique. Les différents éclairages s'obtiennent au moyen d'ouvertures fermées par une glace. Deux côtés et le dessus de l'étuve sont mobiles au moyen de charnières et permettent de disposer l'appareil d'une façon convenable à l'observation. Le chauffage et le réglage s'obtiennent comme dans les étuves ordinaires. Son appareil n'est du reste qu'une modification perfectionnée d'une petite étuve construite par Zeiss sur les indications de Pfeiffer (fig. 64). Le modèle (fig. 65) imaginé par Plehn est d'une commodité plus grande.

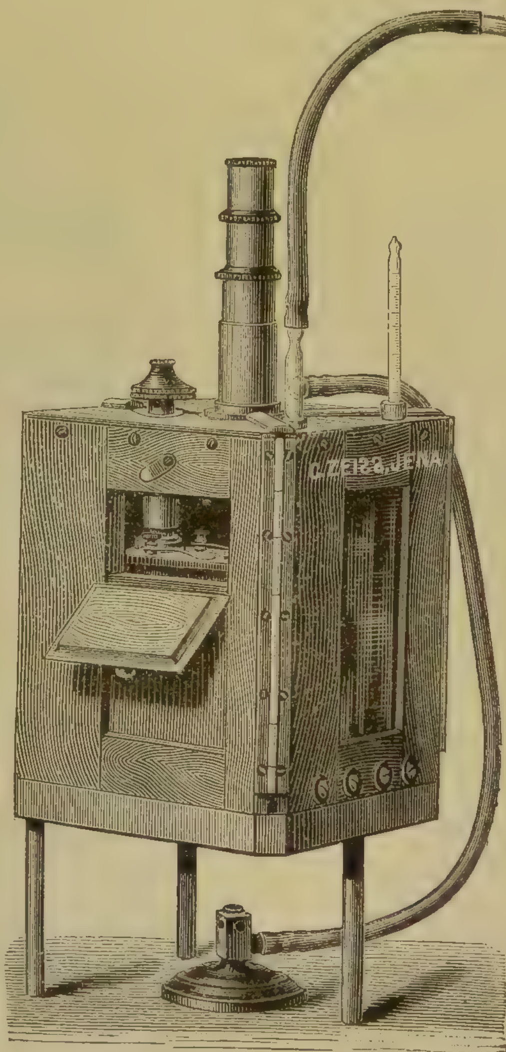


Fig. 64. — Étuve pour observations au microscope.

Les appareils qui viennent d'être décrits rendent d'excellents services dans les recherches de bactériologie et facilitent considérablement l'étude de cette science. Il ne faudrait cependant pas croire que des instruments aussi coûteux et aussi variés soient d'une nécessité absolue pour aborder ce genre de travaux. Loin de là ; l'installation peut se faire sans trop de frais et cependant dans des conditions qui permettent d'en profiter avec fruit. Il est facile de modifier à volonté les moyens employés, pourvu que l'on soit bien certain d'arriver sûrement au résultat désiré.

Le microscope constitue la plus forte dépense. En le comprenant dans la liste d'instruments que tout médecin qui travaille doit posséder, on réduit à peu de chose le prix à consacrer à une installation. L'étuve à air et le bain-marie sont les deux objets qui rendront le plus de services. Le coût du modèle très simple de la première est peu élevé; tout

(1) Kraus, Ueber einen elektrisch geheizten und regulierbaren Objecktstisch (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 16).
(2) Nuttall, *Zeitschr. für Hygiene*, IV, 1888, p. 373.

ouvrier pourra en fabriquer une à bas prix, en tôle de fer ou de cuivre rivé. Il est facile aussi de se faire construire à bas prix un appareil du genre du stérilisateur à vapeur de Koch. Une marmite de taille convenable fait on ne peut mieux office de bain-marie. Ajoutons à cela plusieurs douzaines de tubes à essai, quelques verres de montres,

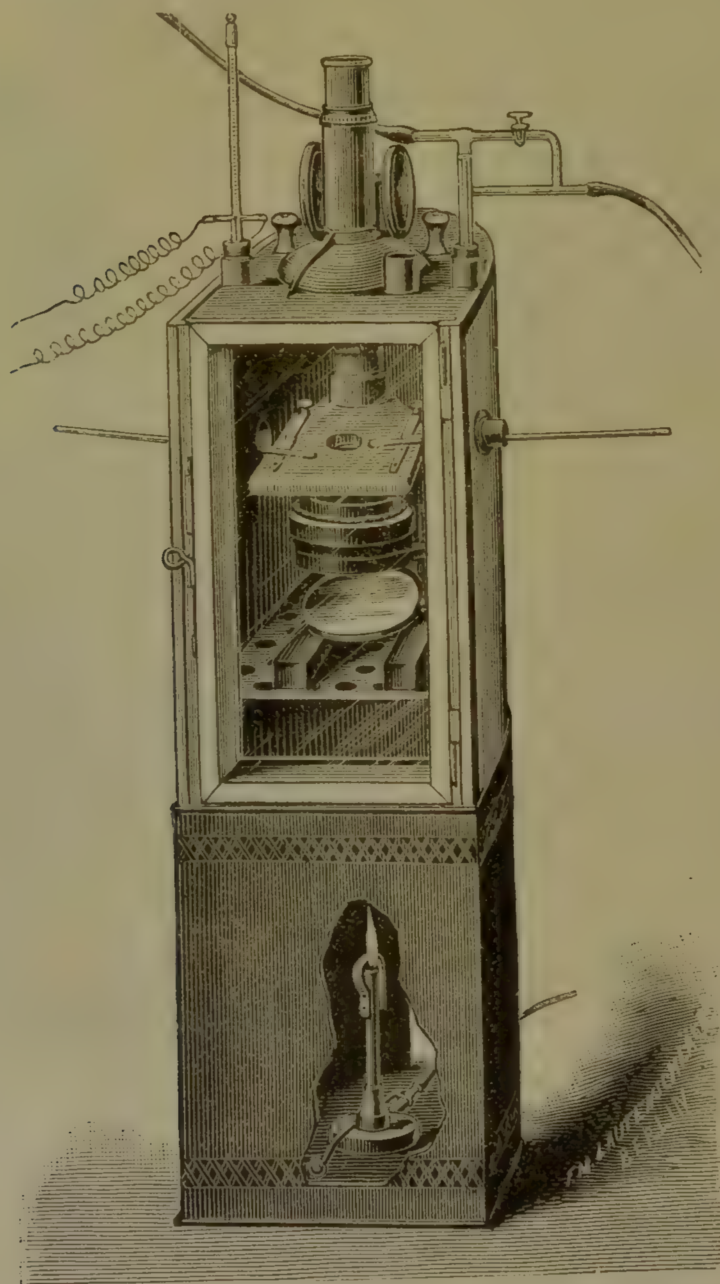


Fig. 65. — Étuve pour microscope, modèle Plehn (Lautenschläger).

entonnoirs, ballons, cristallisoirs, capsules de porcelaine, et nous pourrons aborder, avec ce petit bagage, des recherches bactériologiques sérieuses, à la condition d'apporter avec lui gros de minutie, de patience et de scrupuleuse attention.

II. — CULTURES

1° Généralités sur les milieux de cultures.

S'il fallait s'en rapporter au hasard des circonstances, il serait bien rare et bien difficile de pouvoir se faire une idée un peu complète des conditions biologiques et des propriétés physiologiques des espèces. L'observateur qui veut étudier une espèce a grand avantage à l'isoler, à la faire vivre à part, à l'abri des influences défavorables à sa vie, en lui fournissant un aliment qui lui convient. Il lui est alors facile d'obtenir des notions exactes sur les phénomènes produits, sur l'action des différents agents qu'il peut employer, assuré dès lors que les résultats ne sont pas troublés par des inconnues de milieu ou par des interventions étrangères. On a donc cherché à faire vivre les Bactéries, à les *cultiver* dans des milieux artificiels où l'on en apportait la semence : c'est le procédé des *cultures*. C'est Pasteur qui a posé les bases de cette méthode féconde de recherches, dans ses belles études sur la fermentation lactique et sur les organismes en suspension dans l'atmosphère (1).

Le principe qui domine tout dans cette étude est l'obtention de *cultures pures*; on y parvient à l'aide de procédés qui vont être décrits et qui ont tous pour objet l'usage de milieux purs de tous germes, *stérilisés*, et de matière d'ensemencement ne contenant que la seule espèce à étudier. C'est là, on peut le dire, la base et la clef des études bactériologiques.

On avait découvert les Bactéries dans les liquides; on savait par expérience qu'elles pullulaient rapidement dans les infusions organiques, l'emploi de ces liquides était tout naturellement indiqué. L'usage en a longtemps prévalu ; certains d'entre eux forment, du reste, encore maintenant le terrain que préfèrent bien des espèces. Elles s'y développent très vite, les envahissent en tous sens ; mais souvent le développement s'arrête bientôt, par épuisement du milieu ou diffusion dans sa masse de produits d'excrétion nuisibles; ou, s'il continue, c'est avec lenteur, en donnant naissance à des formes de dégénérescence, les formes d'involution, qui prouvent que l'espèce vit mal. Il ne se forme que rarement des Zooglées d'aspect quelque peu caractéristique ; la gelée, produite par la couche périphérique de la membrane, diffluе et ne peut plus retenir les éléments accolés, ils se répandent dans tout le liquide. Enfin, s'il existe des germes différents, il peut être difficile de s'en apercevoir et de les séparer ; ils se mêlent en effet trop intimement les uns aux autres.

Les milieux solides, au contraire, tout en fournissant un sol nutritif excellent aux Bactéries, permettent aux colonies provenant de leur développement de mieux se délimiter, en s'opposant à leur éparpillement dans la masse; elles y prennent un aspect très constant et souvent caractéristique ; s'il existe des germes différents, ils peuvent évoluer séparément, et former des Zooglées séparées, de sorte qu'il devient plus facile de les isoler.

(1) Pasteur, Mém. sur la fermentation appelée lactique (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XLV, 1857, p. 913), et Mém. sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère (*Ann. des sc. nat.*, *Zool.*, 4e sér., t. XVI, 1861).

La forme de la culture et la facilité d'isolement des espèces sont les deux grands avantages des milieux solides, qui présentent plus rarement les luxurieuses végétations si fréquentes dans les bouillons nutritifs; les milieux liquides doivent être conservés surtout comme moyens de se procurer d'abondants matériaux. Si l'on joint à cela la facilité plus grande de stérilisation, on comprendra que les bouillons doivent occuper une place de première importance dans les méthodes de culture.

La plupart des milieux employés sont loin d'avoir une composition rigoureusement établie et surtout constante. La raison en est dans l'emploi, pour leur préparation, de parties d'animaux ou de végétaux variant toujours plus ou moins dans leur constitution. Ces particularités ont souvent une influence sur le développement des microbes à leurs dépens.

Quand il s'agit non plus de l'étude générale, mais de l'identification d'une espèce, pour rapporter les caractères observés aux descriptions déjà données, il devient nécessaire, si l'on veut pouvoir établir des comparaisons exactes, de se placer d'une façon rigoureuse dans les conditions du premier expérimentateur. Or, la chose devient souvent difficile précisément à cause de ces variations de milieux tenant à la différence des procédés employés pour leur préparation ou aux différences parfois notables existant dans les produits mis en œuvre.

Il serait certainement des plus profitables d'admettre, comme le propose Grimbert (1), l'adoption d'une série de milieux, que l'on pourrait appeler *milieux normaux*, dont la constitution, la préparation, seraient, autant que possible, arrêtées, après entente, d'une façon définitive, et auxquels on pourrait alors se reporter pour la comparaison et la détermination avec beaucoup plus de chance de réussite. Sans doute, il n'est pas possible de songer à une identité absolue pour beaucoup de ces milieux, parce qu'on ne peut guère se procurer certains de leurs constituants d'une composition absolument constante; il en est surtout ainsi, par exemple, pour la viande dont la composition est variable, dans une même espèce, suivant l'état de l'individu, suivant la manière de la mise à mort, le temps écoulé depuis la mort, etc.; pour la gélatine, pour les peptones si variables sous la même marque, pour bien d'autres choses encore. Il devient très difficile ou même impossible d'arriver à opérer dans des conditions tout à fait identiques. Cependant, en arrêtant d'une façon très précise la manière de faire, on pourrait éliminer un assez grand nombre de conditions qui peuvent établir des différences notables.

A côté de ces milieux normaux, on sera libre d'en employer d'autres; on pourra même en tirer de sérieux avantages, mais les caractères obtenus à l'aide des premiers donneront toujours des points de comparaison de grande valeur.

Quant à vouloir supprimer complètement les milieux de composition complexe, peu déterminée ou variable, c'est aller un peu trop loin, aujourd'hui du moins.

Ainsi, on ne peut pas encore se passer des bouillons ordinaires, qu'on les prépare par les anciens procédés, qui sont, il faut le reconnaître, un peu trop pot-au-feu, ou par des procédés plus rapides, on n'en aura pas

(1) Grimbert, De l'unification des méthodes de culture en bactériologie (*Arch. de parasitologie*, I, 1898, p. 191).

moins des liquides ne pouvant pas être rigoureusement identiques à cause des grandes différences que peut présenter la viande, comme il a été dit plus haut.

Sans doute, ici l'idéal serait d'employer des milieux de composition aussi rigoureusement établie que celle des liqueurs titrées des chimistes. Mais on en est encore bien loin, parce que la pratique force vite à reconnaître qu'aucun des nombreux milieux essayés et proposés à ce point de vue ne possède la valeur générale des anciens. Ils réussissent fort bien dans des cas particuliers, pour une ou quelques espèces, mais ne peuvent s'appliquer à la grande généralité comme les autres. De sorte qu'il faudrait une variété considérable de ces milieux dont la composition devrait, pour ainsi dire, varier pour chaque espèce, et cette composition exigerait, pour être déterminée dans chacun des cas, de nombreux essais, ce qui ne serait pas une petite besogne.

D'ailleurs, il est bien difficile de penser qu'on puisse jamais assimiler les développements dans les milieux à de véritables réactions chimiques. Si, en effet, un des facteurs de la réaction, le milieu, pouvait arriver à avoir une constance absolue, l'autre facteur, le microbe, apparaît comme des plus variables dans ses propriétés, surtout dans celles qui doivent entrer en jeu ici, les propriétés biologiques. L'influence de la semence employée se fera toujours sentir, quoi qu'on fasse, du côté du milieu. Pour des raisons que nous n'entrevoyons encore pas, la plupart du temps, le microbe se met à ne plus manifester certaines de ses propriétés biologiques importantes, ne sécrète plus certaines diastases, ne transforme plus les aliments dans le même sens, ne produit plus de pigment, plus de lumière, etc. Le milieu a beau être normal, la réaction cherchée ne se produit plus et ne peut conséquemment servir à l'identification. On ne peut donc jamais avoir en lui la confiance que le chimiste a dans le nitrate d'argent pour la recherche des chlorures, parce que les phénomènes vitaux qui entrent ici en jeu ne peuvent être maniés et dirigés par l'expérimentateur à sa volonté et avec toute certitude.

Ces réserves faites, il faut reconnaître qu'il devient indispensable de préciser et de fixer les conditions dans lesquelles les milieux de cultures doivent être préparés. Et, ici, une entente générale est nécessaire.

2° Préparation des milieux de cultures.

1° *Milieux liquides.*

Les liquides qui ont été employés pour la culture des Bactéries sont très nombreux ; nous nous bornerons à en citer quelques-uns. Les mélanges, aussi nombreux que variés, dont se sont servis différents observateurs, ne possédant aucun autre avantage que de compliquer singulièrement la technique, il est à conseiller de se restreindre à l'usage de quelques milieux, des meilleurs, que l'expérience, du reste, apprend vite à préférer, et à conserver les autres pour l'étude de cas particuliers où il peuvent rendre, du reste, d'excellents services.

Milieux liquides chimiquement définis.

Pasteur (1), le premier, a imaginé de faire développer les Bactéries dans des solutions salines de composition chimique connue. La formule du liquide qu'il employait, connu de tous sous le nom de *solution de Pasteur*, était la suivante :

Liquide de Pasteur.

Eau distillée	100 grammes.
Sucre candi	10 —
Cendres de Levure de bière	$0^{gr},075$

Pour cultiver la Levure de bière, Pasteur y ajouta $0^{gr},1$ de tartrate d'ammoniaque.

Cette solution fut modifiée plus tard par Cohn (2) et Mayer (3) ; le sucre candi, trop favorable au développement des Moisissures, fut supprimé, et les cendres de Levure de bière remplacées par des sels pouvant entrer dans l'alimentation des êtres inférieurs. La *liqueur de Cohn*, encore en faveur dans certains laboratoires d'Allemagne, est ainsi composée :

Liquide de Cohn.

Eau distillée	200 grammes.
Tartrate d'ammoniaque	2 —
Phosphate de potasse	1 gramme.
Sulfate de magnésie	1 —
Phosphate tribasique de chaux	$0^{gr},1$

Naegeli (4) recommande les formules suivantes à employer suivant les cas :

Liquide de Naegeli n° 1.

Eau	100 grammes.
Tartrate d'ammoniaque	1 gramme.
Phosphate bipotassique	$0^{gr},1$
Sulfate de magnésie	$0^{gr},02$
Chlorure de calcium	$0^{gr},01$

Le tartrate d'ammoniaque peut être remplacé par du nitrate, du lactate ou de l'acétate d'ammoniaque, et, pour des besoins spéciaux, par de l'asparagine ou de l'urée.

Liquide de Naegeli n° 2.

Eau	100 grammes.
Peptone ou albumine soluble	1 gramme.
Phosphate bipotassique	$0^{gr},2$
Sulfate de magnésie	$0^{gr},04$
Chlorure de calcium	$0^{gr},02$

(1) Pasteur, Mémoire sur la fermentation appelée lactique (*Ann. de phys. et chim.*, 1859).

(2) Cohn, Untersuchungen über Bacterien (*Cohn's Beitr. zür Biol. der Pflanzen*, I, 2e p.).

(3) Mayer, Untersuchungen über die alkoolische Gährung, 1869.

(4) Naegeli, Untersuchungen über niederen Pilze, 1878.

Liquide de Naegeli n° 3.

Eau	100 grammes.
Sucre de canne	3 —
Tartrate d'ammoniaque	1 gramme.
Phosphate bipotassique	0gr,02
Sulfate de magnésie	0gr,04
Chlorure de calcium	0gr,02

La réaction de ces liquides doit être essayée; on peut la modifier à volonté. Le phosphate bipotassique les rend neutres ou alcalins ; pour les avoir acides, on peut les remplacer par du phosphate monobasique.

Le liquide de Raulin, dont il a été parlé plus haut (p. 44), a une composition plus complexe :

Liquide de Raulin.

Eau	1500 grammes.
Sucre candi	70 —
Acide tartrique	4 —
Nitrate d'ammoniaque	4 —
Phosphate d'ammoniaque	0gr,60
Carbonate de potasse	0gr,60
Carbonate de magnésie	0gr,40
Sulfate d'ammoniaque	0gr,25
Sulfate de zinc	0gr,07
Sulfate de fer	0gr,07
Silicate de potasse	0gr,07

Lorsqu'il faut éliminer complètement l'azote du milieu, on peut avoir recours à la formule suivante employée par Winogradsky (1) dans ses recherches sur l'absorption de l'azote de l'air par les microorganismes :

Liquide de Winogradsky.

Eau distillée	1000 grammes.
Phosphate de potasse	1 gramme.
Sulfate de magnésie	0gr,50
Chlorure de sodium	de 0gr,010 à 0gr,020
Sulfate de fer	de 0gr,010 à 0gr,020
Sulfate de manganèse	de 0gr,010 à 0gr,020

Ce liquide peut être additionné de 1 à 4 p. 100 de sucre.

Ouchinsky (2) préconise beaucoup la formule suivante :

Liquide d'Ouchinsky.

Eau	1000 grammes.
Glycérine	30 à 40 —
Chlorure de sodium	5 à 7 —
Chlorure de calcium	0gr,1
Sulfate de magnésie	0gr,2 à 0gr,4
Phosphate bipotassique	2 à 2gr,25
Lactate d'ammoniaque	6 à 7 grammes.
Asparagine	3 à 4 —

(1) Winogradsky, Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes (*Arch. des sc. biol. de l'Inst. imp. de méd. exp. de Pétersbourg*, III, 1894).

(2) Ouchinsky, Recherches sur la nature des poisons de la diphtérie et du choléra (*Arch. de méd. exp.*, V, 1893, p. 293). — Et : Ueber eine eiweissfreie Nährlösung für pathogene Bakterien (*Centralbl. für Bakt.*, XIV, 1893, p. 316).

Beaucoup de Bactéries pathogènes, entre autres celles de la diphtérie et du tétanos, y poussent aussi bien que dans les bouillons et y gardent la même activité.

Arnaud et Charrin (1) donnent comme très favorable au développement du *Bacille pyocyanique* le milieu suivant qui peut également convenir à d'autres espèces :

Liquide d'Arnaud et Charrin.

PO^4K^2	0gr,100
$PO^4Na^2 + 12H^2O$	0gr,100
CO^3KH	0gr,134
$CaCl^2$	0gr,050
$MgSo^4 + 7H^2O$	0gr,050
Asparagine cristallisée	5 grammes.
Eau distillée	1 litre.

Le liquide suivant est de composition plus simple :

Liquide de Fraenkel et Voges.

Chlorure de sodium	5 grammes.
Phosphate neutre de soude	2 —
Lactate d'ammoniaque	6 —
Asparaginate de soude	4 —
Eau distillée	1000 —

Bien des espèces, saprophytes ou pathogènes, y végètent bien, en particulier le *Bacille de la morve*, le *Colibacille*, le *Bacille pyocyanique*. En ajoutant 5 à 6 p. 100 de glycérine, le *Bacille de la tuberculose* s'y cultive très bien (2).

Bordas et Joulin (3) proposent, sous le nom de *lacto-sérum*, le milieu suivant, qui jouirait des mêmes propriétés culturales que le lait :

Lacto-sérum artificiel.

Lactose	55 grammes.
Albumine d'œuf pulvérisée	18 —
Chlorure de sodium	0gr,60
Eau distillée	1000 grammes.

Neutraliser à la soude jusqu'à réaction nettement alcaline, filtrer dans des tubes à essai et stériliser à l'autoclave à 110° pendant dix minutes en disposant les tubes sur un lit d'ouate, pour éviter un échauffement trop brusque pouvant faire brunir la solution alcaline de lactose.

Il est du reste facile pour l'expérimentateur de modifier la composition de tels liquides suivant les besoins ou les indications de l'expérience.

Les *liqueurs minérales* sont, d'une façon générale, peu propices au développement des Bactéries. Elles sont bien plus propres à nourrir des Champignons plus élevés, les Levures et les Moisissures par exemple. Beaucoup de nos espèces ne peuvent pas y vivre ; toutes y vivent mal.

(1) Arnaud et Charrin, Recherches cliniques sur les sécrétions microbiennes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 6 avril 1891).

(2) C. Fraenkel, Beiträge zur Kenntniss des Bakterienwachstumes auf eiweissfreien Nährbaden (*Hygien. Rundschau*, IV, 1894, p. 769).

(3) Bordas et Joulin, Sur le développement des microorganismes sur le lacto-sérum artificiel (*Soc. de Biol.*, 9 janvier 1897).

Dans des cas particuliers cependant, de tels milieux nutritifs, de composition chimique constante et bien connue, peuvent rendre de grands services pour l'étude physiologique de certains types. C'est en s'en servant que l'on arrive au mieux à se rendre compte et des modifications que l'espèce fait subir à la composition chimique du milieu, et de l'influence que certaines substances peuvent avoir sur la vitalité de l'espèce. Nous avons vu précédemment (p. 44) à quels résultats curieux est arrivé Raulin (1), en étudiant les conditions de développement d'une Moisissure, l'*Aspergillus niger*, dans les solutions purement minérales.

Milieux liquides végétaux.

On a préconisé les macérations, les infusions et les décoctions de plantes. L'eau de foin est, parmi les nombreux liquides de cette nature dont on fait usage, celle qui a joui d'une plus grande faveur. On ne saurait, à moins de raisons spéciales, recommander l'emploi de ces milieux dont les qualités nutritives sont en général très faibles. Leur préparation est du reste facile. Les plantes ou parties de plantes sont coupées en morceaux et mises à macérer, à infuser ou à décocter, selon le cas. Le liquide est neutralisé à l'aide d'une solution saturée de bicarbonate de soude, puis filtré. Il est prêt à être soumis aux opérations.

Les *jus* ou *sucs* végétaux sont traités de la même façon. Leur usage est encore plus restreint.

Infusion de foin ou de paille. — Quinze ou vingt grammes de foin ou de paille, coupés en petits morceaux, sont traités par un litre d'eau bouillante ; le tout est laissé à infuser pendant une demi-heure. On filtre et on neutralise à la soude ou on acidifie avec un peu d'acide tartrique selon les besoins. On stérilise à l'autoclave.

Décoctions végétales. — On fait bouillir le produit dans l'eau pendant une demi-heure à une heure et on traite le liquide filtré comme il est nécessaire.

Eau de Levure. — On fait bouillir 100 grammes de Levure de bière dans un litre d'eau ; on filtre, neutralise et stérilise à l'autoclave.

Eau de Malt. — On délaye dans un litre d'eau 100 grammes de malt broyé. On maintient le mélange de 55° à 58° pendant une heure, sans dépasser 58° pour ne pas détruire la diastase. Il se forme un vrai moût de bière. Après ce temps, on porte à l'ébullition, puis on filtre et stérilise à l'autoclave.

Eau de touraillons. — Les touraillons sont les plantules et les radicelles de l'orge germée que l'on sépare du malt ; 100 grammes de touraillons sont mis à macérer pendant deux heures dans un litre d'eau. On fait bouillir quelques minutes ; on filtre et on stérilise à l'autoclave.

Roux (de Lyon) (2) recommande tout spécialement ce milieu qui se montrerait souvent supérieur aux bouillons de viande. Il est des espèces, certains Streptocoques pathogènes entre autres, qui, se développant péniblement sur les milieux les plus habituels, donnent une abondante végétation sur les milieux au touraillon.

(1) Raulin, Études chimiques sur la végétation. Recherches sur le développement d'une Mucédinée dans un milieu artificiel (*Ann. des sc. nat.*, *Bot.*, 1870).

(2) Roux, Emploi du touraillon pour la culture des Bactéries (*Soc. de Biol.*, 13 juillet 1889).

Milieux liquides animaux.

Les plus importants de ces milieux artificiels sont sans contredit les bouillons de viande. Ce sont ceux que l'on emploie de beaucoup le plus couramment. Malgré certaines incertitudes forcées dans leur composition, provenant de causes qui ont été exposées plus haut (p. 171), c'est encore à eux qu'on aura recours le plus souvent parce qu'ils donneront les meilleurs résultats.

Bouillon de viande peptonisé. — Le bouillon de viande est sans contredit le liquide nutritif à préférer. Il se fait d'habitude avec les viandes de bœuf, de veau, de cheval, de volailles. Les morceaux découpés sont mis à décocter, sur un feu doux, dans une quantité d'eau, qui est d'habitude de 1 litre par livre de chair. On écume soigneusement, après quelques bouillons, et on maintient en ébullition pendant cinq heures. On ramène aux proportions indiquées, en ajoutant de l'eau. Après refroidissement, on dégraisse en enlevant d'abord la graisse qui s'est figée à la surface, soit en siphonnant le liquide clair, puis on filtre sur papier mouillé, on neutralise à l'aide de la solution saturée de bicarbonate de soude ou de soude caustique, en faisant bouillir à nouveau. Il est à recommander d'ajouter 6 à 8 grammes de sel par litre ; d'après Miquel (1), le bouillon salé est plus propre à la culture des Bactéries. Cette addition de sel doit se faire, d'après Benoist (2), après la neutralisation et la filtration, pour éviter la formation d'un nouveau précipité. On peut donner des qualités spéciales à ces bouillons en leur ajoutant une petite quantité de glucose et de glycérine, de 1 à 2 p. 100 ou plus de chacune de ces deux substances.

Le bouillon est ensuite porté à 120° dans l'autoclave. Il se trouble souvent à chaud, par suite d'une précipitation de phosphates moins solubles à chaud qu'à froid, mais reprend sa limpidité par le refroidissement.

Le procédé suivant peut aussi être employé. On prend de la viande de bœuf aussi fraîchement tué que possible, encore chaude même s'il est possible, pour éviter l'acidité que détermine toujours une légère altération. Cette viande finement hachée est mise dans un ballon avec une fois et demie son poids d'eau et le tout porté à 120° pendant vingt minutes dans l'autoclave. Le bouillon obtenu est à peu près neutre ; la faible acidité est combattue avec de la soude caustique en solution. On filtre sur filtre mouillé et on stérilise à une température qui ne doit pas dépasser 110 degrés.

Avant de répartir le bouillon dans les vases où on doit le conserver et le faire servir, il est à recommander de lui faire subir, en bloc, l'action de l'autoclave ou du stérilisateur pendant quelque temps. Fréquemment, en effet, les bouillons, obtenus comme il vient d'être dit, se troublent de 100 à 120 degrés. Une nouvelle filtration est alors nécessaire. Il est à remarquer que les bouillons mal dégraissés, ou qui n'ont pas subi une ébullition après la neutralisation, restent souvent opalescents et continuent à précipiter, même longtemps après leur fabrication. Ce précipité

(1) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère. Thèse de Paris, 1882.
(2) Benoist, Préparation de quelques milieux nutritifs destinés à l'étude des Bactéries (*Ann. de micr.*, 1888, p. 75).

paraît être constitué souvent par du phosphate de chaux, d'autres fois par de la graisse émulsionnée ou en partie saponifiée.

Procédé recommandé. — Il est plus simple et certainement au moins aussi avantageux d'adopter la manière de faire suivante, qui donne un excellent bouillon employé depuis longtemps au laboratoire de Koch, à Berlin, sous le nom de *Fleisch-infus-pepton.*

1° Cinq cents grammes de viande dégraissée sont hachés et mis à macérer à basse température, pendant vingt-quatre heures, dans un litre d'eau ;

2° On passe et exprime dans un linge et au besoin on ramène au volume de un litre ;

3° On chauffe jusqu'à ébullition et on fait dissoudre de 10 à 20 grammes de peptones sèches pour un litre ;

4° On filtre sur un filtre mouillé pour enlever la graisse ;

5° On alcalinise, jusqu'à réaction alcaline légère, mais nette ;

6° On chauffe à l'autoclave à 120° pendant un quart d'heure, puis on filtre à chaud ;

7° On remplit les récipients voulus et on stérilise à l'autoclave.

Dans le cours des opérations employées pour préparer ces bouillons, on peut être amené à ajouter d'autres substances, dans un but déterminé, des sucres, de la glycérine, etc. Ces additions ne font rien changer à la technique indiquée.

Bouillon de peptones. — Des peptones de bonne qualité donnent des solutions d'excellent usage et très commodes à préparer. Nous nous servons de la méthode suivante : de 1 à 2 grammes de peptones sèches sont dissous dans 100 grammes d'eau à l'ébullition. On ajoute goutte à goutte de la solution de soude caustique jusqu'à réaction *très légèrement alcaline*; les peptones étant d'ordinaire très acides nécessitent souvent une forte proportion d'alcali. Le liquide est filtré et stérilisé. Il se maintient indéfiniment clair et paraît parfaitement convenir au développement des différentes espèces de Bactéries ; il est toujours plus fortement coloré que le bouillon de viande et brunit même parfois à l'autoclave. Il est nécessaire de veiller de très près à la qualité des peptones à employer ; leur valeur nutritive est excessivement variable, parfois très faible. Les résultats obtenus avec une marque peuvent souvent manquer avec une autre.

Pour des besoins particuliers, on peut ajouter aux peptones 1 p. 100 de glucose, d'un autre sucre, ou de glycérine ; mais il faut savoir que l'addition de sucres peut modifier l'attaque des peptones par les microbes ; en particulier, comme l'a montré Péré (1), les sucres s'opposent à la formation d'indol, la transformation de la peptone étant alors moins complète ; il peut en être de même des nitrates, pour le Colibacille par exemple. On doit employer de préférence celles que la pratique montre donner de bons résultats. Les plus usitées sont celles de Chapoteaut, de Chassaing, de Witte.

Bouillon d'extrait de viande. — On le prépare en faisant dissoudre de l'extrait de viande de Liebig ou autre dans l'eau bouillante, en proportion de 5 grammes d'extrait pour 100 d'eau. Après solution, on neu-

(1) Péré, Contribution à l'étude du *Bacterium coli* et du Bacille typhique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 512).

tralise par le bicarbonate de soude et on filtre. Le liquide obtenu est d'une belle couleur jaune rougeâtre assez foncée. Il se décolore en vieillissant et devient jaune. On peut le rendre plus nutritif en ajoutant 1 p. 100 de glucose.

Le bouillon d'extrait de viande n'est qu'un aliment médiocre pour les Bactéries, dont le développement ne s'y fait jamais aussi abondamment. à beaucoup près, que dans les bouillons préparés avec de la viande. De plus, il est d'une stérilisation difficile ; il précipite souvent plusieurs fois de suite lorsqu'il est porté à une température de 105°, ce qui en complique singulièrement l'emploi.

Liquides de l'organisme.

Les espèces parasites ne trouvent dans les meilleurs bouillons que des conditions de nutrition d'une ressemblance un peu lointaine avec celles qui favorisent leur développement dans l'organisme. Elles s'y développent mal, quelques-unes même pas du tout. On a donc songé à utiliser comme milieu de culture, soit le milieu où elles se trouvent, soit des parties équivalentes.

Le sérum du sang, l'urine et le lait sont, de ces milieux, ceux auxquels on a le plus souvent recours. Plus exceptionnellement, on emploie le sang défibriné, le sang oxaliqué, l'humeur aqueuse, ou des liquides pathologiques, les sérosités de la plèvre, de l'ascite, de l'hydrocèle, le pus de certains abcès anciens, amicrobiens, comme certains abcès tuberculeux.

Sérum. — Le sérum sanguin a été pendant quelque temps le seul milieu où pouvaient se développer certaines Bactéries pathogènes. Son emploi était donc d'une nécessité absolue pour l'étude de ces espèces ; l'importance a été toutefois considérablement restreinte à ce point de vue depuis qu'on a observé que ces mêmes espèces se développaient encore mieux sur d'autres milieux ordinaires légèrement modifiés.

Pour obtenir du sérum on peut, très avantageusement, avoir recours à la méthode suivie depuis longtemps dans les laboratoires de Pasteur, qui permet de l'avoir d'emblée pur de tout germe vivant. Dans la séance du 20 avril 1863, Pasteur a présenté à l'Académie des sciences du sang et de l'urine prélevés aseptiquement. Cette méthode consiste à recueillir *avec pureté* du sang *pur* chez un animal *sain* : après vingt-quatre ou quarante-huit heures, du sérum *pur* se sépare, à la suite de la rétraction du caillot. La chose est relativement facile à réaliser en s'adressant à un grand animal, cheval, bœuf ou vache ; plus délicate déjà pour le mouton ou le chien, elle demande des précautions assez minutieuses, pour des animaux de petite taille, le lapin, le cobaye, la poule, à cause de la faible dimension des vaisseaux. D'une façon générale, le sérum des différentes espèces animales paraît également convenir pour la culture des Bactéries ; on a donc intérêt ici à s'adresser à l'animal qui offre le plus de commodités pour l'opération. Cet animal est sans contredit le cheval, et ceci pour plusieurs raisons. On peut d'abord obtenir d'un seul coup une forte quantité de sang ; un cheval vigoureux de taille moyenne supporte facilement une saignée de 6 litres ; en ne lui prenant que 4 litres de sang, la soustraction passe pour ainsi dire inaperçue.

On puise très facilement le sang dans la veine jugulaire qui a un fort calibre et se trouve au cou, dans une assez grande longueur, située immédiatement sous la peau ; les plaies veineuses sont en plus beaucoup moins graves que les plaies artérielles. Enfin le sang de cheval donne un caillot beaucoup plus beau, et par conséquent plus de sérum que le sang de bœuf ou de veau par exemple. Il est en outre très facile de se procurer des chevaux pour la saignée, dans les villes où il existe des boucheries chevalines au moins ; les bouchers prêtent très volontiers pour cet usage des chevaux destinés à être abattus peu de temps après. D'ailleurs, une saignée de quelque importance déjà, 5 ou 6 litres de sang, passe tout à fait inaperçue chez un cheval bien portant.

Pour ces diverses raisons, et en outre à cause de l'importance que prend cette opération sur le cheval depuis les remarquables travaux de Roux sur la sérothérapie, il est bon de décrire cette opération sur le cheval avec quelques détails.

L'animal doit d'abord être solidement maintenu, tant pour ne pas nuire à l'opérateur ou à ses aides que pour ne pas compromettre les

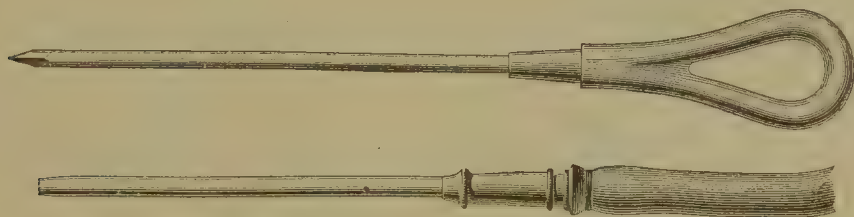


Fig. 66 et 67. — Trocarts Roux.

résultats de l'opération. Le simple tord-nez suffit d'ordinaire, lorsqu'il est tenu par une main ferme; les chevaux difficiles peuvent exiger l'emploi d'entraves ou même l'usage de l'appareil à contention connu sous le nom de *travail*. Une compression, manuelle ou à l'aide d'une pelote, pratiquée à la base du cou, à l'endroit où la jugulaire entre dans le thorax, fait gonfler la veine qui apparaît alors vers le milieu du cou dans la gouttière jugulaire sous forme d'un cordon cylindrique, fluctuant ; elle a là la grosseur d'un fort doigt. A cet endroit, la peau est rasée avec soin sur un large espace de 8 à 10 centimètres de diamètre. Cette place est d'abord savonnée, rincée à l'eau bouillie, puis lavée à fond à la liqueur de Van Swieten. A l'aide d'un bistouri stérilisé, l'opérateur fait sur la veine en saillie une incision de 3 centimètres environ. Après avoir incisé la peau avec précautions, il aperçoit la veine sous une mince couche de tissu conjonctif; il doit respecter cette mince enveloppe qui protège la paroi veineuse contre la chute de Bactéries en suspension dans l'air qui pourraient être entraînées lors de la ponction et souiller alors le sang que l'on veut obtenir. La petite plaie est lavée avec grand soin au sublimé ; le moment est arrivé pour la ponction du vaisseau. En raison des grandes dimensions du vaisseau, on peut user d'un trocart de fort calibre. Ce trocart et sa canule doivent naturellement être dûment stérilisés à l'autoclave ou par une ébullition d'une quinzaine de minutes dans l'eau. Le modèle de Roux et Nocard figuré ci-contre (fig. 66 et 67) est d'un emploi très commode. L'opérateur tenant le trocart entré dans la canule, comme une plume à écrire, le fait pénétrer dans la mince

couche conjonctive qui recouvre la veine en lui donnant une direction parallèle au vaisseau ; dès que l'instrument a pénétré d'un demi-centimètre environ, il le dirige obliquement sur la paroi du vaisseau et le fait pénétrer d'un coup sec dans sa cavité. Si l'opération est réussie, la canule entre facilement sur une partie de sa longueur.

En retirant le trocart, on voit jaillir le sang par l'orifice supérieur de la canule. Il ne reste plus qu'à mettre la canule en communication avec les vases destinés à recueillir le sang ; ceci se fait facilement à l'aide d'un tube de caoutchouc muni d'un embout spécial, s'adaptant à l'orifice supérieur de la canule et terminé par un tube de verre destiné à pénétrer dans le vase ; le tube et les ajutages sont stérilisés à l'autoclave à l'avance. Les vases destinés à recevoir le sang doivent être de contenance en rapport avec les besoins ; pour les provisions de sérum, ils peuvent contenir plusieurs litres. La forme des vases importe pour la rétraction du caillot ; les flacons cylindriques conviennent moins que les flacons dits d'Erlenmeyer, où le caillot se rétracte mieux et donne par conséquent plus de sérum. Ces vases doivent être dûment stérilisés avant de recevoir le sang. Il vaut mieux les stériliser à l'autoclave encore humides qu'à la chaleur sèche ; la chaleur sèche rend en effet souvent le verre dur au toucher, comme écailleux, ce qui peut provoquer l'adhérence du caillot au vase et nuire à sa rétraction parfaite. L'orifice en a préalablement été fermé par un tampon d'ouate ou mieux coiffé, avec un papier un peu résistant ; le col est recouvert d'un cornet protecteur de papier brouillard blanc (fig. 68). Au moment voulu, lorsque le sang peut couler par le tube de verre qui termine le caoutchouc réuni à la canule, un aide enlève le cornet de papier brouillard. L'opérateur, sans laisser couler le sang, perce la coiffe de papier avec l'extrémité du tube de verre d'un orifice aussi petit que possible, enfonce le tube dans le flacon et peut alors laisser couler le sang jusqu'au niveau voulu, jusqu'au remplissage presque complet s'il



Fig. 68. — Flacon d'Erlenmeyer préparé pour recueillir le sang.

le désire. Dans les flacons bien remplis, la rétraction du caillot paraît se faire plus régulièrement. Pendant ce temps, le vase doit être tenu incliné de façon à éviter la chute des poussières atmosphériques sur la petite ouverture faite au papier. Si le flacon est fermé par un tampon d'ouate, ce dernier est enlevé avec une pince flambée, le flacon étant toujours tenu oblique, le tube de verre est introduit, puis le tampon remplacé pendant la durée de l'opération. Le sang ainsi recueilli se coagule d'ordinaire très vite ; quelques minutes après, il est déjà souvent pris en gelée. Au bout de vingt-quatre à trente-six heures, le caillot s'est rétracté et a séparé un sérum transparent de couleur ambrée, que l'on aspire avec des pipettes Chamberland stérilisées, pour le répartir dans les récipients divers où l'on veut faire les cultures, qui eux aussi ont été stérilisés d'avance.

Si l'on s'adresse à de plus petits animaux, le chien par exemple, il faut légèrement modifier la technique opératoire. Il faut naturellement user d'un trocart plus petit. Il n'est plus guère possible d'entrer d'autorité dans la veine dont le calibre est trop petit. Il faut isoler le vaisseau par une dissection minutieuse, le placer sur une sonde cannelée, y faire une petite incision avec toutes les précautions antiseptiques voulues et introduire la canule par cet orifice. Des animaux de cette taille ne peuvent donner qu'une petite quantité de sang ; un chien ne supporte guère facilement la soustraction de plus de 300 centimètres cubes de sang. Si l'on en veut plus, il faut alors s'adresser à la carotide et saigner l'animal à blanc ; la mort s'ensuit fatalement.

La prise du sang de très petits animaux, lapins, cobayes, poules, est plus difficile encore. Il faut introduire dans un gros vaisseau ou dans le cœur, préalablement mis à nu, la pointe effilée et tranchante d'une petite pipette de verre et aspirer par l'autre orifice.

Pour une prise d'une petite quantité de sang, on peut simplement se servir d'une seringue stérilisée dont on introduit la canule dans le vaisseau.

Lorsqu'on ne peut pas prendre le sang sur l'animal de la façon qui vient d'être indiquée et qu'on est forcé, pour obtenir du sérum, d'utiliser le sang tel qu'il est livré à l'abattoir, c'est-à-dire ayant eu à subir des chances nombreuses de contamination, il faut mettre en œuvre des procédés spéciaux. On recueille dans des vases stérilisés le sang donné par un animal qu'on égorge et on le laisse se coaguler dans un endroit frais. On en soutire le sérum lorsque la rétraction du caillot s'est opérée. Mais ici ce sérum a beaucoup de chances de contenir des germes provenant de la peau de l'animal, des poussières de l'air, des diverses manipulations ; il est nécessaire de les faire périr ou de les séparer, si l'on veut éviter l'altération du milieu et le faire servir à des cultures pures. Les procédés à mettre en œuvre pour arriver à ce but seront exposés plus loin en parlant de la *stérilisation* des milieux de cultures (p. 199).

Bien qu'on ne remarque guère de différence dans l'emploi, pour les cultures, du sérum provenant de différentes espèces animales, il peut cependant y avoir intérêt à employer un sérum déterminé. Ainsi, d'après Bumm (1), le *Micrococcus gonorrheæ* ne pourrait se développer bien que

(1) Bumm, Der Microorganismus der gonorrheischen Schleimhaut Erkrankungen. Wiesbaden, 1885.

sur le *sérum humain*. Il recommande pour l'obtenir la méthode suivante. Aussitôt après la section du cordon, quand le gâteau placentaire est encore dans la matrice, on recueille le sang qui s'écoule. On en obtient de 40 à 60 centimètres cubes d'ordinaire. Le vase qui le contient est laissé en repos de dix-huit à vingt-quatre heures ; la coagulation se fait. On recueille de 16 à 20 centimètres cubes de sérum parfaitement clair par placenta.

Recueilli de cette manière, il faut naturellement le soumettre à la stérilisation. On peut aussi chercher à le recueillir aseptiquement. Pour cela, on peut suivre la marche suivante. Aussitôt la ligature du cordon faite, on met une pince à pression à 3 ou 4 centimètres au-dessus, puis on sectionne le cordon près de la ligature avec des ciseaux stérilisés; la surface de section est alors rapidement stérilisée avec une spatule fortement chauffée. On introduit alors dans l'artère ombilicale, béante, l'effilure d'une pipette Chamberland préalablement chauffée dans la flamme. La pince est enlevée et par des frictions douces on provoque quelques contractions utérines. Le sang pénètre dans la pipette et est ensuite versé dans un flacon d'Erlenmeyer, de capacité en rapport avec son volume, puis abandonné au repos jusqu'à rétraction du caillot ; le sérum est soutiré et réparti dans les vases de culture. Ce sérum humain est assez lent à se séparer du caillot et est toujours coloré par de l'hémoglobine qui s'est dissoute.

Sérosités pathologiques. — Les sérosités pathologiques de l'hydrocèle, de la plèvre, du péritoine, peuvent tout aussi bien servir. On leur applique les mêmes procédés pour les recueillir et les mettre en usage. On peut chercher à les recueillir aseptiquement lorsqu'on est sûr qu'elles ne contiennent pas de microbes, ou alors les soumettre aux procédés de stérilisation qui seront exposés plus loin.

On augmente de beaucoup la puissance nutritive des sérums et sérosités à l'égard des Bactéries, en leur ajoutant une petite quantité de peptones, 1 à 2 p. 100. Ces peptones sont ajoutées dissoutes dans le moins d'eau possible et leur solution est stérilisée d'avance, surtout quand elle doit être mêlée à des liquides déjà purs.

Sang défibriné. — Gilbert et Fournier (1) ont recommandé, pour la culture du Pneumocoque, le sang défibriné liquide ou solide. Ce milieu renferme de l'hémoglobine dont les modifications de couleur surtout, résultant des réactions de la vie microbienne, peuvent donner des indications utiles. Pour le préparer, on peut recueillir du sang aseptiquement dans des vases spéciaux, dont la paroi interne porte de nombreuses pointes obtenues par le retrait du verre ; par agitation, la fibrine s'accole en longs filaments à ces pointes. Ou, plus communément, on bat le sang recueilli en vase ouvert avec un petit balai de jonc, on le défibrine à la manière ordinaire et on soumet le liquide restant, sérum et globules, aux procédés de stérilisation par chauffages répétés qui seront indiqués plus loin.

Urine. — L'urine a été fréquemment employée autrefois comme liquide de culture. On peut la prendre après la miction et la soumettre aux procédés de stérilisation, pour la dépouiller des germes qui ont pu la

(1) Gilbert et Fournier, La culture du pneumocoque dans le sang défibriné (*Soc. de l.*, 11 janvier 1896).

contaminer, à son passage dans l'air ou à son contact avec la peau toujours riche en Bactéries, même la muqueuse des portions antérieures de l'urètre. Portée à 110°, l'urine acide devient franchement alcaline. Il est souvent préférable de la recueillir *pure*. On prépare un vase terminé par un tube de verre muni d'un robinet. L'appareil est stérilisé en bloc dans l'air chaud. La partie libre du tube est introduite assez avant dans le canal de l'urètre qui a été préalablement lavé par l'émission d'un jet d'urine. L'urine ainsi obtenue peut se conserver sans se putréfier aucunement; au bout de quelque temps, souvent, elle se colore en brun, mais ne se trouble jamais. Il faut cependant se souvenir qu'obtenue par ce procédé, elle a bien des chances de contenir des Bactéries qui se rencontrent encore loin de l'orifice du méat, sur la muqueuse urétrale.

Pasteur s'en est fréquemment servi dans ses premières recherches et en particulier dans ses études sur les ferments de l'urée (1). D'après Miquel (2), l'urine normale est peu putrescible; l'urine neutralisée à l'aide de soude caustique l'est un peu plus. Elle l'est toutefois moins que le bouillon d'extrait Liebig, que nous savons bien inférieur aux bouillons de viande. Les solutions d'urée donnent les mêmes résultats. Comme l'urée, en solution dans l'eau, se décompose facilement vers 90°, Leube (3) recommande de stériliser séparément l'urée et le liquide à additionner. L'urée sèche supporte facilement 105° pendant une heure.

L'urine et les solutions d'urée ne sont à recommander que pour des recherches spéciales. Il est souvent alors préférable de se servir de bouillon de peptones ou de milieux chimiquement définis, additionnés de la quantité voulue d'urée.

Lait. — Le lait peut être obtenu dépourvu de tous germes, comme les liquides précédents, en enfonçant une canule d'argent stérilisée dans les trayons d'une vache préalablement savonnés et lavés ensuite à l'eau bouillie. Il faut cependant se souvenir que des Bactéries peuvent pénétrer assez profondément dans ces canaux. On trouve plus commode de le prendre tout tiré, sauf à le soumettre aux différents procédés de stérilisation, surtout l'autoclave à 115°, qui du reste n'altèrent pas sensiblement sa composition. S'il est un peu acide avant l'emploi, il faut le neutraliser avec très peu de soude.

Nous avons vu précédemment la composition d'un milieu artificiel proposé pour remplacer le lait (p. 174) et remédier surtout à la difficulté d'observer de minimes modifications de ce liquide, en particulier une légère coagulation.

2° *Milieux solides.*

Nous connaissons les avantages de ces milieux et nous allons décrire la préparation de ceux qui sont le plus habituellement employés.

Milieux nutritifs à la gélatine. — Les gelées à base de gélatine ont été introduites dans la pratique des cultures de Bactéries par Klebs et Brefeld. Leur emploi s'est beaucoup généralisé et perfectionné depuis;

(1) Pasteur et Joubert, Sur la fermentation de l'urine (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXIII, 1876).

(2) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère, p. 194.

(3) Leube, Ueber die ammoniakalische Harngährung (*Virchow's Arch.*, C, 188, p. 540).

on peut dire qu'il forme un des points essentiels des études bactériologiques.

La gélatine qui sert à confectionner la gelée doit être choisie dans les premières marques des fabriques françaises. La meilleure est celle qui se vend sous le nom de *gélatine extrafine*, *blanc-manger*, en paquets enveloppés de papier bleu et à étiquette dorée. C'est avec celle-ci que l'on obtient les gelées les plus belles et les plus transparentes ; les qualités inférieures donnent un milieu qui reste presque toujours un peu trouble ou légèrement laiteux, quoi qu'on fasse, et qui supporte mal les températures de stérilisation. La beauté de la gelée n'est du reste pas un caractère essentiel.

La quantité de gélatine qui doit solidifier un poids donné d'eau doit varier suivant les circonstances et surtout suivant la saison. Tandis que pendant la saison froide la proportion de 6 à 10 grammes de gélatine pour 100 grammes d'eau suffit amplement pour donner une gelée très consistante, il faut, pendant les fortes chaleurs de l'été, élever ce poids à 15 et même 20 grammes pour 100 grammes d'eau. On concasse les plaquettes de gélatine et on fait fondre les morceaux dans l'eau chauffée au bain-marie ; l'emploi du feu nu est à éviter ou au moins demande une grande prudence. Pour augmenter la qualité nutritive du milieu, on ajoute à ce moment de 1 à 2 p. 100 de peptones sèches. En dehors de besoins particuliers, il est à recommander d'éviter d'ajouter des sucres aux milieux à la gélatine, ces composés pouvant empêcher la production de modifications importantes du milieu par certains microbes, en particulier la liquéfaction (1). La gélatine et les peptones donnant une forte réaction acide, on verse peu à peu d'une solution de soude jusqu'à neutralisation complète et même jusqu'à réaction légèrement alcaline. Les Bactéries se développant d'habitude très mal dans les milieux acides, il leur faut des milieux neutres ou alcalins ; il faut toutefois éviter un excès même léger ; les alcalis libres ont en effet une action nuisible ou retardatrice sur le développement de beaucoup de Bactéries. De plus, la gélatine alcaline supporte moins facilement des températures de 100° et audessus. On porte le bain-marie à l'ébullition que l'on maintient une dizaine de minutes, pour produire la coagulation de matières albuminoïdes qui pourraient gêner. Suivant la température du local, la filtration peut se faire dans un entonnoir ordinaire ou exiger l'emploi d'un *entonnoir bain-marie*, qui maintient le produit complètement liquide et hâte l'opération. La figure 69 représente l'entonnoir bain-marie ordinaire. C'est un entonnoir en cuivre dans lequel se place un second entonnoir en verre. Entre les deux, reste un espace que l'on remplit d'eau. L'entonnoir en cuivre porte un appendice creux à sa partie inférieure. C'est cette queue que l'on chauffe avec un bec de gaz ou une lampe à alcool. La température de l'eau qui entoure l'entonnoir en verre s'élève très vite; il faut éviter d'arriver à l'ébullition à cause des projections qui peuvent se produire.

L'appareil représenté figure 70 est plus compliqué. Il est établi sur le même principe ; le chauffage se fait par la couronne où la température se maintient par la circulation d'eau chaude, qui exige l'emploi d'un

(1) Auerbach, Ueber die Ursache der Hemmung der Gelatineverflüssigung durch Bakterien durch Zuckerzusatz (*Arch. für Hygiene*, XXXI, 1897, p. 311).

bain-marie spécial, en communication avec le tube b et le robinet r. La gélatine claire tombe dans le réservoir d et peut être facilement répartie dans les vases à l'aide du tube que commande la pince à pression f.

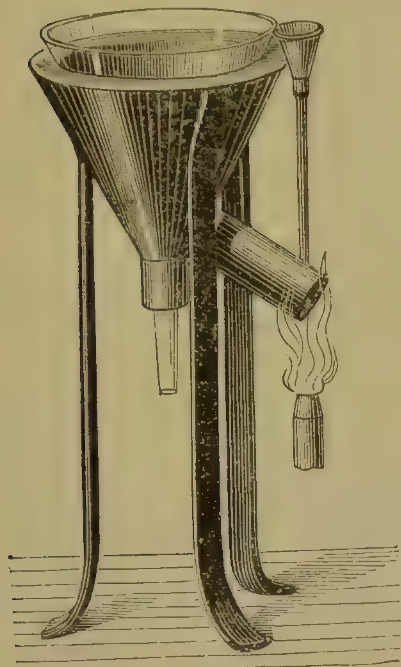


Fig. 69. — Entonnoir bain-marie ordinaire.

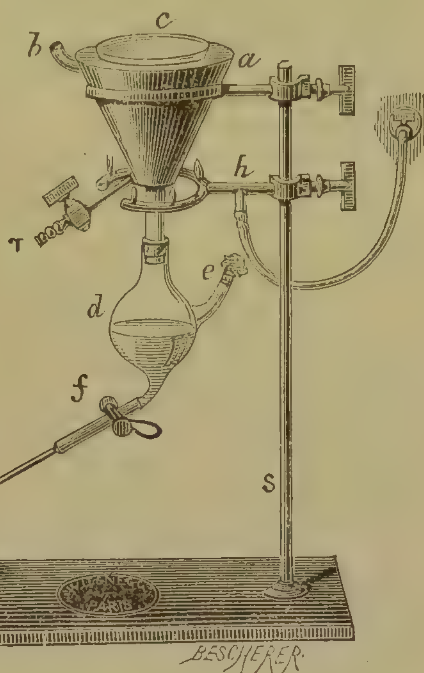


Fig. 70. — Appareil à filtration à chaud.

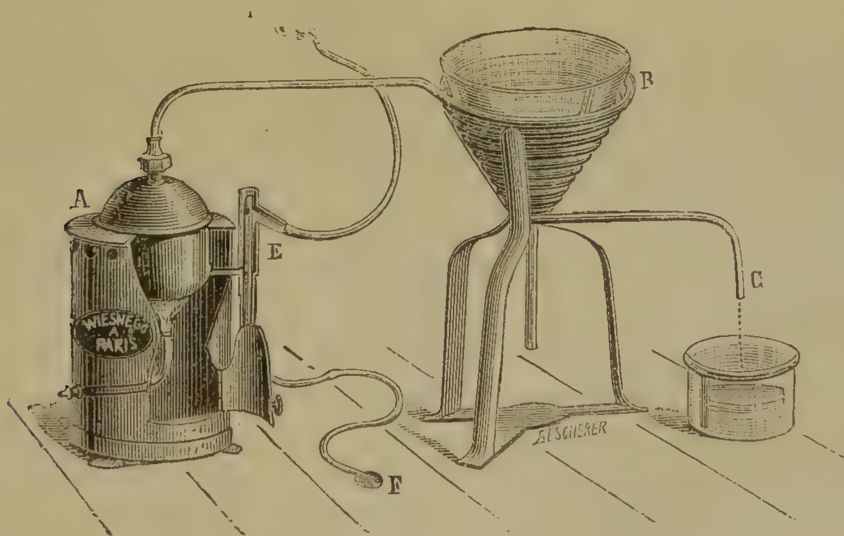


Fig. 71. — Appareil à filtration à la vapeur.

Dans l'appareil figure 71, appareil à filtration à la vapeur, l'entonnoir est chauffé par la vapeur qui parcourt le serpentin qui l'entoure.

La filtration peut du reste se faire bien plus commodément en opérant dans le stérilisateur à vapeur ou dans l'autoclave sans pression.

Cette gelée, connue sous le nom de *gélatine nutritive* ou plutôt simplement *gélatine*, exige souvent, pour être limpide, plusieurs filtrations successives. Souvent elle précipite à nouveau lorsqu'elle est portée à

100° ou 120° pour la stérilisation. Ces précipités sont formés exclusivement de phosphate de chaux ; aussi faut-il éviter, lorsqu'on veut faire des mélanges plus complexes, de mettre dans ces gelées les phosphates, si favorables cependant au développement des Bactéries.

Au lieu d'ajouter des peptones sèches à la masse, on peut faire dissoudre la gélatine dans les différents bouillons dont la préparation a été indiquée précédemment. On obtient ainsi, avec des bouillons de viande peptonisée ou non, une gélatine nutritive d'excellente qualité. La gelée préparée au bouillon de malt ou de touraillon peut être précieuse à employer. On peut également employer dans le même but l'un quelconque des milieux chimiques donnés.

Lorsqu'on se sert de gélatines de qualité inférieure, il faut éviter, dans ces manipulations, l'emploi du feu nu et une ébullition prolongée, qui pourraient modifier la gelée et la rendre impropre au but que l'on veut remplir. La température de 100° maintenue assez longtemps, surtout en présence d'un léger excès d'alcali, modifie le milieu de telle façon qu'il perd la propriété de se prendre en gelée en refroidissant ; la même modification se produit plus facilement encore aux températures élevées de l'autoclave. Le milieu renferme de la *gélatine-peptone*, qui ne se distingue de la gélatine primitive que par l'impossibilité de se solidifier par abaissement de la température. Ce produit offre beaucoup de réactions des peptones vraies. Le fait est peut-être aussi dû à la présence de produits provenant d'altérations antérieures.

La gélatine bien préparée fond à une température qui varie dans des limites très restreintes avec la quantité d'eau qu'elle contient. Les milieux qui contiennent une proportion de gélatine de 6 à 10 p. 100 sont liquides à 25 degrés. On peut prendre 23° comme terme moyen, et encore est-il prudent de régler les étuves où l'on veut placer des cultures sur gélatine, pour une température qui ne doit pas dépasser 20 degrés. La légère évaporation d'eau, qui se fait forcément entre le moment de la préparation de la masse et celui où on l'utilise, élève toujours de quelques fractions de degré le point de fusion primitif. Il en est de même de la consistance qui est en rapport direct avec le point de fusion. Elle est d'autant plus forte qu'il y a plus de gélatine dans la masse où elle s'élève sensiblement par suite de la dessiccation. Avec de fortes proportions de gélatine, 15 p. 100 et plus, on peut obtenir des gelées supportant 24° sans se liquéfier ; c'est une indication qui peut être précieuse.

Il arrive parfois que, malgré des filtrations répétées, les milieux de gélatine conservent une apparence laiteuse ou opalescente. On les obtient d'une limpidité absolue en les clarifiant au blanc d'œuf. La gélatine étant fondue au bain-marie et maintenue à basse température, 40° par exemple, jamais au-dessus de 50°, on lui mélange un blanc d'œuf battu en neige dans un peu d'eau, ou une portion seulement, suivant la quantité à clarifier (un blanc d'œuf par litre par exemple); on remue pour bien répartir dans le liquide et on active le gaz jusqu'à ébullition du bain-marie. L'albumine se coagule et emprisonne les particules les plus ténues en suspension dans le liquide qui passe absolument hyalin lors du filtrage ou même du simple passage à travers une pièce de feutre. Le passage sur la chausse de feutre et de flanelle suivi d'une filtration sur papier donne de très beaux milieux. Avec la gélatine extra-

fine, on colle à l'autoclave sans danger, mais il faut prendre la précaution de porter le milieu à la température que l'on emploiera pour le stériliser, 115°-120°, et même à une température un peu supérieure; sans quoi, on peut s'exposer, si l'on stérilise à une température plus élevée que celle employée pour le collage, à voir de nouveaux flocons d'albumine se former dans le milieu. Le blanc d'œuf contient en effet diverses albumines qui se coagulent à des températures différentes.

On peut aussi préparer des gelées excellentes à l'aide de jus de viande, de pieds de veau, etc. Elles paraissent même être préférables à la masse obtenue comme nous venons de l'indiquer; mais la complication du manuel opératoire est loin d'être compensée par la supériorité peu marquée du produit.

Pour des besoins particuliers, on peut ajouter à la gélatine d'autres substances que les peptones.

L'addition de sucres, sucre de canne, glucose ou autres, à 1 ou 2 p. 100, est parfois indiquée. Il faut alors se souvenir que de telles gélatines, comme il a été dit plus haut (p. 177), sont bien moins facilement liquéfiées par les Bactéries liquéfiantes habituelles, fait dû à l'absence ou à la production moindre du ferment protéolytique qui produit cette modification.

Gélatine d'Elsner. — Pour parvenir à différencier le *Colibacille* et le *Bacille typhique*, Elsner (1) préconise l'emploi d'une gélatine au suc de pommes de terre additionné d'iodure de potassium. On prépare ce milieu de la façon suivante : on pile soigneusement 500 grammes de pommes de terre, on les râpe et on les fait macérer pendant trois ou quatre heures dans un litre d'eau ; on tamise la masse et on laisse déposer pendant une nuit. On décante le liquide, on filtre et on y fait dissoudre à feu doux de 15 à 20 p. 100 de gélatine. La réaction du produit est très acide ; on lui ajoute de la *solution normale de soude* (2) jusqu'à ce que la réaction ne soit plus que très faiblement, mais cependant encore nettement acide ; suivant le degré d'acidité primitif, il faut de 20 à 30 centimètres cubes de solution alcaline. On filtre, on clarifie au blanc d'œuf et stérilise. Pour l'usage, le milieu est réparti dans des ballons en contenant 100 grammes. Au moment de s'en servir on ajoute, à chaque ballon, 1 gramme d'iodure de potassium, qui se dissout lentement dans la gélatine maintenue fondue; ou bien dans des tubes, par 10 ou 20 centimètres cubes, auxquels on ajoute, au moment de s'en servir, 1 ou 2 centimètres cubes d'une solution stérilisée d'iodure de potassium à 10 p. 100. On ensemence comme pour les cultures sur plaques ordinaires et on répartit sur plaques, ou, mieux, dans des boîtes de Petri. Très peu d'espèces peuvent pousser sur un tel milieu. Le *Bacille typhique* et le *Colibacille* y végètent bien et il est possible de les différencier aisément à l'aspect des colonies.

D'après Grimbert (3), la réaction du milieu d'Elsner est due à la gélatine. Il serait possible de simplifier la méthode en n'employant que

(1) Elsner, Untersuchungen über electives Wachstum der Bacterium coli Arten und des Typhus bacillus und dessen diagnostiche Verwerthbarkheit (*Zeitschr. für Hygiene*, XXI, 1895).

(2) La *solution normale de soude* des auteurs allemands renferme par litre d'eau 40 grammes de soude caustique pure, correspondant à 23 grammes de sodium.

(3) Grimbert, Sur la préparation du milieu d'Elsner (*Soc. de Biol.*, 4 juillet 1896).

de la gélatine à laquelle on laisse un certain degré d'acidité, l'acidité équivalant à 1 gramme d'acide sulfurique par litre, ce qui correspond à l'emploi de 5 centimètres cubes d'eau de chaux pour neutraliser 10 centimètres cubes de gélatine.

Grimbert propose de remplacer cette gélatine d'Elsner par un milieu artificiel de la composition suivante, basée sur la composition moyenne du jus de pomme de terre :

Eau distillée	1000 grammes.
Maltose	1 gramme.
Amidon soluble	2 grammes.
Asparagine	2 —
Phosphate neutre de potasse	2 —
Sulfate de potasse	2 —
Sulfate de magnésie	2 —
Bimalate d'ammoniaque	2 —
Carbonate de magnésie	1 gramme.

On ajoute au milieu 15 p. 100 de gélatine. Au moment de servir, la gelée est additionnée de 1 p. 100 d'iodure, ou mieux de bromure de potassium.

L'*ichtyocolle* ne donne que des gelées de qualité inférieure.

Milieux nutritifs à la gélose. — Les gelées à base de gélatine, malgré leurs incontestables avantages, sont forcément d'un emploi limité. Quelle que soit la quantité de gélatine que l'on y met, la masse fond vers 23 à 24 degrés. D'où impossibilité d'arriver à un beau développement pour beaucoup d'espèces, qui présentent un optimum de végétation à un degré supérieur, et une absence totale de multiplication pour certaines, des pathogènes surtout, qui exigent une température voisine de 37 degrés. De plus, de nombreuses Bactéries liquéfiant très rapidement ces gelées, il peut en résulter des difficultés dans leur diagnose et l'obtention de cultures pures.

Chez certaines plantes, les membranes cellulaires peuvent se transformer, en tout ou en partie, en une substance, isomère de la cellulose, qui, dure et cornée à l'état sec, possède la propriété de se gonfler énormément sous l'influence de l'eau, de donner, en absorbant une grande quantité de ce liquide, de la gelée ou du *mucilage*. Les couches ainsi modifiées sont dites *gélifiées*; elles ne donnent plus les réactions caractéristiques de la cellulose, en particulier elles ne bleuissent plus par l'acide sulfurique et l'iode ou par le chlorure de zinc iodé. Cette transformation des membranes cellulaires en mucilage est fréquente chez les Algues.

Les gelées ainsi produites présentent, entre autres caractères, celui de ne fondre qu'à une température élevée; un très petit nombre de Bactéries, celles qui s'attaquent à la cellulose, arrivent seules à les liquéfier. A ce double point de vue, elles remplissent les deux desiderata signalés dans l'emploi des masses à la gélatine.

Par contre, pures, elles ne possèdent, leur composition chimique le prouve, que des propriétés nutritives très faibles, pour ne pas dire nulles, tant est restreint le nombre d'espèces qui peuvent se nourrir de cellulose simple ou peu modifiée. Aussi faut-il les additionner de principes nutritifs en proportions assez fortes, ou user, pour les préparer, de bouillons obtenus d'après les formules indiquées précédemment.

Miquel (1) a songé le premier à se servir de ces mucilages végétaux pour les cultures sur milieux solides à une température supérieure à 25 degrés. Il utilisait la gelée formée par le *Chondrus crispus* Lyngb., Algue marine de la famille des *Gigartinées*, ordre des *Floridées*. On la trouve sur les côtes de l'Atlantique, depuis les Açores jusqu'en Norvège. Elle est très employée à la confection de gelées commerciales et connue sous le nom de *Carraghaen* ou *Mousse d'Irlande*. Miquel opérait de la façon suivante : 300 grammes d'Algue sont mis à digérer dans 10 litres d'eau bouillante ; on maintient l'ébullition plusieurs heures, puis on passe au tamis. Le liquide est de nouveau porté à l'ébullition et passé à l'étamine dans un entonnoir chaud. La liqueur est évaporée au bain-marie et versée dans des cuvettes de porcelaine où on la fait sécher ; on obtient un résidu dur qui, ajouté au bouillon dans la proportion de 1 p. 100, le transforme par refroidissement en une gelée qui reste solide jusqu'à 45 à 50 degrés. Elle ne fond qu'entre 55° et 60° et supporte facilement une température de 110 degrés.

Puccinelli (2) donne le procédé suivant pour obtenir une belle gelée avec cette même Algue. Six grammes de *Fucus crispus* bien lavé à l'eau sont mis à cuire avec 200 grammes de bouillie de viande neutralisée dans le stérilisateur à vapeur pendant une heure. On filtre sur un filtre simple chauffé ou, mieux, dans un entonnoir bain-marie. On obtient rapidement le liquide nécessaire pour garnir une douzaine de tubes à essai.

On obtient plus facilement des gelées à l'aide d'une Algue des mers des Indes, le *Gelidium spiniforme* Lamx., de l'ordre des *Floridées* également. C'est cette espèce qui forme la majeure partie de la drogue connue sous le nom d'*Agar-Agar* ou *Varech corné*. La matière gélatineuse qu'on en retire a été étudiée, en 1859, par Payen (3), qui lui a donné le nom de *gélose*. C'est une substance amorphe se gonflant et se dissolvant dans l'eau bouillante; le liquide se prend en gelée par le refroidissement. Elle solidifierait, d'après ce chimiste, environ cinq cents fois son poids d'eau, formant, à poids égal, dix fois plus de gelée que n'en donne la meilleure gélatine. On prépare facilement de belles gelées nutritives, à l'aide de la drogue du commerce, de la façon suivante (4) :

Vingt-cinq grammes du produit commercial, coupé en petits morceaux, sont mis à macérer dans un demi-litre d'eau acidulée d'acide chlorhydrique à 6 p. 100 ; on laisse en contact vingt-quatre heures en remuant à plusieurs reprises. Après plusieurs lavages à grande eau, pour faire disparaître toute trace d'acide, on met l'Algue déjà gonflée dans 400 ou 500 grammes d'eau additionnée de 5 p. 100 d'ammoniaque ; on la retire après un jour et on la lave comme précédemment. Pendant les fortes chaleurs de l'été, il est bon de réduire de moitié le temps de ces deux macérations successives.

On fait alors bouillir à feu nu un litre d'eau distillée et, lorsqu'elle est en pleine ébullition, on y jette l'Algue, qui se dissout immédiatement ou en peu de temps. Le liquide est essayé au papier de tournesol et neutra-

(1) Miquel, Septième mémoire sur les organismes microscopiques de l'air et des eaux (*Annuaire de l'Observ. de Montsouris pour 1885*, p. 467).

(2) Puccinelli, *Bull. della Real Acad. med. di Roma*, XVI, 1890, fasc. V.

(3) Payen, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1859, et Traité de chimie industrielle, II, p. 41.

(4) Macé, Sur la préparation des milieux à la gélose pour la culture des Bactéries (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 189).

lisé avec la solution saturée de bicarbonate de soude. On filtre à chaud, sur un entonnoir bain-marie (fig. 184) ou de préférence dans le stérilisateur à vapeur ou l'autoclave vers 100 degrés, après avoir passé sur une flanelle, ce qui facilite beaucoup la filtration. Le liquide très limpide se prend, par refroidissement, en une belle gelée, opalescente lorsqu'elle est en masse, mais très transparente en plaques ou dans des tubes à réactifs. Haegler (1) supprime la filtration en centrifugeant le liquide; par le refroidissement dans l'appareil, on obtient des masses de gelée dont on sépare au couteau l'extrémité où se sont réunies les particules qui étaient en suspension. On peut aussi clarifier au blanc d'œuf en opérant comme il a été dit pour la gélatine; le mélange doit être fait vers 45 degrés.

La technique qui vient d'être exposée donne toujours un très beau milieu de consistance suffisante et adhérant très bien aux tubes à essai.

Il est des géloses qui se dissolvent facilement, après un simple gonflement dans l'eau simple ou acidulée, dans l'eau bouillante et permettent de supprimer en partie les manipulations précédentes. D'autres, au contraire, ne donnent de bons résultats qu'avec le traitement complet. La pratique le montrera aisément.

On rend la gelée nutritive en lui ajoutant, avant de la filtrer, une solution de peptones dans les proportions de 1 à 2 grammes de peptones sèches pour 100 grammes de gelée. On fait dissoudre 10 à 15 grammes de peptones sèches dans 50 grammes d'eau, on neutralise et on filtre. Le mélange avec la gelée se fait parfaitement à chaud. Ou, mieux, on se sert comme liquide de bouillon peptonisé. C'est ce mélange que nous désignerons simplement sous le nom de *gélose*.

L'addition de faibles quantités de glycérine, 1 à 5 p. 100, à la gélose ainsi préparée, lui donne des propriétés nutritives plus énergiques. Nocard et Roux (2) ont conseillé l'emploi de cette *gélose glycérinée* à 5 p. 100 pour les cultures du Bacille de la tuberculose, qui se développe d'une façon luxuriante sur ce milieu. Beaucoup d'autres espèces, d'après des expériences de notre laboratoire, se conduisent de même. La glycérine doit probablement servir directement à la nutrition de la Bactérie; en tous cas, elle modifie favorablement le milieu et conserve en particulier l'humidité et la perméabilité de sa surface. Il est à recommander d'ajouter, dans ce cas, mais seulement lorsque la proportion de glycérine est élevée, vers 6 p. 100, quelques gouttes d'une solution concentrée de gomme arabique, qui permet à la gelée d'adhérer aux parois des vases de verre; hors ce cas particulier, l'addition de gomme est plutôt à éviter.

En ajoutant de 1 à 2 p. 100 de glucose ou de lactose, on obtient une *gélose glucosée* ou une *gélose lactosée* dont l'usage peut donner de très bons résultats pour certaines espèces.

La consistance de ces masses de gelées varie naturellement avec la proportion d'eau qui entre dans leur composition. On la fait augmenter en diminuant la quantité de liquide. La transparence devient alors moins grande.

(1) Haegler, Zur Agarbereitung (*Centralbl. für Bakt.*, XVII, 1895, p. 558).

(2) Nocard et Roux, Sur la culture du Bacille de la tuberculose (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 20).

La gélose obtenue comme nous l'indiquons ne commence à fondre que vers 70° à 75° ; à 80°, elle est visqueuse et ne devient complètement liquide qu'entre 85° et 90 degrés. Par refroidissement, elle se solidifie vers 40 degrés.

Gélose au sang. — Besançon et Griffon (1) la recommandent pour la culture du *Bacille de la tuberculose*. Ils donnent la technique suivante : dans des tubes contenant de la gélose glycérinée à 6 p. 100, maintenue fondue au bain-marie, on reçoit aseptiquement une petite quantité de sang au sortir de l'artère de l'animal. On fait aussitôt le mélange en évitant de secouer trop fort le tube, puis on le pose sur un plan incliné pour refroidir. En se refroidissant, la gélose emprisonne le sang et donne un milieu de culture tout spécial.

Gélose aux albuminates alcalins. — Pour éviter la préparation, souvent ennuyeuse, au point de vue de la stérilisation surtout, des milieux au sérum sanguin, et en raison des facilités de culture de certaines espèces, Deycke (2) a imaginé de préparer une gélose additionnée d'un albuminate alcalin ; elle est connue sous le nom de *gélose de Deycke*. Il recommande surtout ce milieu pour l'examen bactériologique des angines diphtériques; les colonies du *Bacille de la diphtérie* s'y développent rapidement, tandis que les autres microbes qui l'accompagnent souvent dans les fausses membranes, principalement le *Streptocoque pyogène*, y poussent mal.

Les *albuminates alcalins* se préparent de la façon suivante : On introduit dans un ballon 1 kilogramme de viande de veau dégraissée et finement hachée ; on ajoute 1200 centimètres cubes d'une solution de potasse à 3 p. 100 et on agite fortement. Le tout est abandonné à l'étuve à 37° pendant quarante-huit heures, puis chauffé au bain-marie à 60°-70° pendant quelques heures : on filtre ensuite sur papier. Le liquide brun obtenu est additionné avec précaution d'acide chlorhydrique pur qui précipite l'albuminate alcalin. Le précipité est recueilli sur un linge fin, mis en suspension dans de l'eau distillée. On ajoute une solution saturée de soude caustique jusqu'à réaction fortement alcaline. Il se produit une redissolution partielle; en soumettant le mélange à 100° pendant plusieurs heures dans un stérilisateur à vapeur, tout se dissout. Il faut alors corriger la réaction qui doit être neutre ou légèrement alcaline. On évapore ce liquide jusqu'à siccité au bain-marie et à l'étuve au-dessous de 100° ; on en obtient une poudre brunâtre qu'on peut dissoudre dans l'eau. Pour obtenir la gelée, on ajoute, pour 100 grammes d'eau, 1 gramme d'albuminates alcalins, 1 gramme de peptone, $0^{gr},50$ de sel marin, 2 grammes de gélose, 5 grammes de glycérine. Le restant de la préparation se fait comme pour la gélose ordinaire.

Sérum solidifié. — Il suffit de porter à une température de 65° à 68° le sérum recueilli comme il a été dit page 179, pour le voir se solidifier immédiatement dans la position qui lui est donnée. Il se transforme en une masse de consistance de blanc d'œuf cuit, de coloration jaune ambré, opalescente surtout lorsqu'elle est d'une notable épaisseur.

(1) Bezançon et Griffon, Culture du Bacille tuberculeux sur le sang emprisonné dans la gélose glycérinée (*Soc. de Biol.*, 4 février 1899).

(2) Deycke, Weitere Erfahrungen über die Bedeutung von Alkalialbuminaten (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1894, n° 25). — *Id.*, Die Benutzung von Alkalialbuminaten zur Herstellung von Nahrboden (*Centralbl. für Bakt.*, XVII, 1895, p. 241).

D'après Nocard et Roux (1), l'addition de 6 à 8 p. 100 de glycérine donne un milieu bien préférable. Elle empêche la dessiccation de la surface, qui se produit toujours lorsqu'on conserve le sérum quelque temps avant de l'employer, et donne des cultures plus belles que le sérum ordinaire.

La préparation des milieux au sérum, demandant une technique spéciale, sera étudiée plus loin en parlant du mode de stérilisation qui leur est appliqué (Voy. p. 199). Les mêmes procédés sont applicables au sang défibriné.

On peut employer le sérum du sang de différentes espèces animales. Le point de solidification varie. Le sérum du mouton est celui qui se coagule le plus vite ; celui du veau est plus lent à se solidifier.

Gelées minérales. — On peut être conduit, pour des besoins ou des facilités spéciales, à éviter la présence de toute matière organique ou à n'introduire dans le milieu qu'une ou plusieurs matières organiques bien définies, et lorsqu'on veut user de milieux solides gélatineux, qui peuvent en particulier offrir de grands avantages pour isoler certaines espèces, à se servir de *milieux gélatineux minéraux*. Deux produits minéraux peuvent donner des gelées de bonne consistance, l'hydrate d'alumine et la silice : Winogradsky (2) conseille de choisir le dernier. Il l'emploie de la façon suivante : On prend la solution de silicate de potasse connue dans le commerce sous le nom de *verre soluble*, de consistance sirupeuse ; on l'étend de trois fois son volume d'eau. Cent centimètres cubes du mélange sont versés en agitant dans 50 centimètres cubes d'acide chlorhydrique étendu et le mélange mis dans un dialyseur. Au bout de trois jours, en laissant le dialyseur le premier jour dans l'eau courante, le reste du temps dans l'eau distillée souvent renouvelée, la solution est prête pour l'usage ; on le reconnaît à ce qu'elle ne donne aucun trouble avec le nitrate d'argent. Elle peut alors être stérilisée par ébullition et conservée dans un ballon bouché avec du coton ou du liège. Pour l'usage, on concentre une quantité suffisante de solution silicique en l'évaporant dans un petit ballon, jusqu'à ce qu'elle soit réduite à la moitié de son volume. Avant que le liquide ait atteint son degré de concentration, on ralentit l'évaporation et on fait quelques essais successifs de son pouvoir gélatinisant. Pour cela, on prend sur un verre de montre deux ou trois gouttes du liquide et on y ajoute une goutte de solution saline ; la tendance à gélatiniser doit se manifester au bout de cinq minutes ; au bout de dix à quinze minutes, la gelée doit être si ferme qu'une empreinte faite à sa surface ne s'efface plus. Il ne faut pas pousser la concentration plus loin. On distribue alors la solution silicique dans les vases à employer pour la culture et on ajoute la dissolution nutritive qui a été préparée d'avance, l'une des solutions minérales dont il a été parlé plus haut (p. 172 et suiv.) par exemple, ou toute autre. On prend la moitié ou le tiers de la solution silicique, suivant le degré de fermeté que l'on veut atteindre et on a soin de bien opérer le mélange. Sleskin (3) propose une manière de faire peu différente.

(1) Nocard et Roux, Sur la culture du Bacille de la tuberculose (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 20).

(2) Winogradsky, Recherches sur les organismes de la nitrification, 4e mémoire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V, 1891, p. 92).

(3) Sleskin, Die Kieselsaüregalblerte als Nährsubstrat (*Centralbl. für Bakt.*, X, 1891, p. 209).

Pommes de terre. — Les pommes de terre cuites sont d'un excellent usage. On choisit une variété blanche très grasse, les surfaces de section étant plus unies et se délitant moins. Les tubercules sont lavés et frottés soigneusement avec une brosse à main, puis mis à cuire trois quarts d'heure ou une heure dans le stérilisateur à vapeur ou dans tout autre ustensile de cuisine. Il est à recommander plutôt de peler les pommes de terre avant de les cuire; leur stérilisation est alors bien plus facile. On les découpe par moitié ou par tranches épaisses à l'aide d'un couteau stérilisé ou en morceaux de dimensions voulues au moyen d'un tube emporte-pièce. Il est nécessaire de les laver après sous un courant d'eau, pour enlever des traces de sels de fer laissées par l'instrument qui peuvent modifier la coloration de certaines cultures, ou, mieux, employer un couteau à lame d'argent. En employant l'autoclave, on les cuit et on les stérilise tout ensemble, en les laissant une vingtaine de minutes à 120 degrés. On peut aussi préparer une *purée de pommes de terre* en les écrasant après les avoir pelées.

Le plus souvent les pommes de terre ont une réaction neutre ; quelquefois elles l'ont nettement acide ; il est bon alors, avant de les cuire, de les laisser tremper quelque temps dans de l'eau légèrement alcalinisée avec de la soude.

Pommes de terre glycérinées. — On les prépare en laissant macérer pendant quarante-huit heures les morceaux de pommes de terre pelées dans l'eau additionnée de 6 à 15 p. 100 de glycérine; après ce temps, les morceaux sont placés dans les tubes et le tout est mis à l'autoclave à 115° pendant vingt minutes. Il est bon de mettre au fond des tubes une petite quantité de liquide glycériné. Nocard a montré que c'était un milieu de choix pour le Bacille de la tuberculose ; le Bacille humain paraît mieux pousser avec la quantité de 6 p. 100 de glycérine.

Pommes de terre alcalines. — Lorsqu'on recherche un milieu fortement alcalin, il faut laisser tremper les morceaux pendant une nuit dans de l'eau additionnée d'environ 3 p. 100 de soude caustique et stériliser après.

Pommes de terre acides. — Les morceaux sont mis à macérer pendant une nuit dans de l'eau additionnée d'environ 3 p. 100 d'acide lactique, chlorhydrique ou autre. Un morceau, lavé au préalable puis coupé, doit donner sur la tranche une réaction acide bien nette. A son défaut, on ajoute de l'acide à l'eau et on prolonge la macération ; stériliser après.

Carottes. — C'est un milieu qui convient très bien pour certaines espèces. On les prépare comme les pommes de terre.

Artichauts. — L'artichaut a été proposé par Roger (1) comme bon moyen de diagnostic.

Après avoir enlevé les feuilles, on coupe le fond en petits cubes, en ayant soin de conserver le foin. On introduit les morceaux dans des tubes dont l'extrémité fermée est remplie avec de l'ouate humide. On place le foin en haut. Après avoir fermé à l'ouate, on chauffe à 115° à l'autoclave pendant un quart d'heure. Quand on fait l'ensemencement, il faut avoir soin de déposer les germes au point où se fait l'insertion des fleurs, à l'union du foin et du fond.

(1) Roger, L'artichaut cuit comme milieu de culture en microbiologie (*Soc. de Biol.*, 16 juillet 1898).

Les cultures que l'on obtient peuvent être divisées en deux groupes : tantôt le milieu conserve sa coloration normale, avec le *Bacille typhique*, le *Staphylocoque doré* par exemple; tantôt il prend, plus ou moins rapidement, une coloration verte qui, dans certains cas, devient extrêmement foncée, presque noire, ce qui s'observe avec le *Colibacille*, le *Bacillus subtilis*, le *Bacille du charbon*, le *Micrococcus prodigiosus*. Il est des espèces qui ne poussent pas sur ce milieu, le *Streptocoque pyogène* et le *Bacille de la diphtérie*, par exemple.

Matières amylacées cuites. — Elles peuvent toutes servir. Elles ont principalement été employées pour cultiver les espèces chromogènes. L'empois d'amidon, le riz cuit, la mie de pain, les tranches de pain et les hosties ramollies par l'eau conviennent dans bien des cas, surtout pour les espèces qui ne sont pas trop exigeantes au point de vue des aliments.

Œufs. — Les œufs peuvent être utilisés de différente façon.

Certaines espèces se cultivent bien dans l'œuf frais cru. On secoue fortement les œufs de façon à bien mélanger le blanc et le jaune, puis on les laisse macérer pendant vingt-quatre heures dans du sublimé à 1 p. 1000 pour stériliser la coquille; on flambe la petite extrémité et on y fait un petit trou par lequel est fait l'ensemencement. L'orifice est ensuite fermé avec un peu de paraffine ou de cire fondue.

On a surtout usé du blanc d'œuf cuit pour cultiver les Bactéries colorées dont les colonies tranchent parfaitement à la surface. On le coupe en petits morceaux qu'on met dans des tubes et stérilise à l'autoclave.

D'après Schenk (1), l'albumine des œufs de vanneau ne se coagule que vers 65° à 70°, en donnant une masse hyaline, légèrement opalescente. Avant coagulation, on peut, sans nuire à la dureté de la masse, ajouter un quart du volume d'eau tenant en suspension du sucre ou de la glycérine destinés à augmenter les qualités nutritives du milieu. Mais les œufs de vanneau sont rares dans bien des pays.

On peut être conduit à se servir de jaune d'œuf pour certaines cultures; le jaune d'œuf additionné de 5 p. 100 de glycérine donne un milieu de belle apparence.

Bouillie de viande. — La viande est finement hachée et cuite un certain temps, de un quart d'heure à une heure et plus, suivant la quantité, à l'autoclave à 120 degrés. L'emploi de ce milieu peut être utile dans des cas spéciaux.

Substances inertes imbibées de liquides nutritifs. — On prend du sable, de petits blocs de plâtre, ou mieux des morceaux de terre de pipe, qu'on place dans des vases appropriés avec une quantité suffisante du liquide que l'on désire employer. Le liquide, en excès, imprègne le substratum. La stérilisation se fait comme d'habitude.

3° Stérilisation.

La condition essentielle pour observer le développement des différentes espèces de Bactéries est d'écarter des cultures tout germe étranger à celui que l'on veut étudier. Les impuretés d'une culture peuvent provenir de trois sources différentes : du milieu où elle croît, qui n'était pas

(1) Schenk, Fester Nährboden zur Züchtung der Microorganismen (*Allgem. Wiener med. Zeitung*, XXXII, 1887, p. 214).

débarrassé de germes; de l'air qui peut venir la contaminer lorsqu'on ouvre le vase pour l'observation; et enfin de la matière qui a servi à ensemencer la culture, qui contenait des espèces autres que celle en question. On verra plus loin quelles précautions on doit prendre pour éviter l'apport de germes étrangers par l'air, apport bien moins fréquent qu'on ne peut le supposer, et quelles facilités certains procédés spéciaux, l'emploi des cultures sur plaques de gélatine surtout, offrent pour isoler avec toute certitude les espèces les unes des autres. Nous devons nous occuper ici de la première seulement des trois causes de contamination signalées et des moyens d'y obvier.

On peut, nous l'avons vu, obtenir certains milieux, des liquides normaux ou pathologiques de l'organisme principalement, absolument purs de germes, en les recueillant avec toutes les précautions nécessaires pour n'en pas introduire; il est possible alors de les employer tels quels.

Les conditions sont d'habitude plus complexes. La masse nutritive peut renfermer plusieurs espèces de Bactéries dont le développement viendra se mêler avec celui de l'espèce étudiée ou l'empêcher complètement. C'est le cas le plus fréquent, même avec les milieux préparés à une température voisine de 100°; on a vu que beaucoup de spores résistaient souvent pendant un temps assez long à ces hautes températures. D'un autre côté, le vase qui renferme la masse nutritive garde toujours des germes après ses parois où les ont déposés l'eau qui a servi au nettoyage ou l'air qu'y ont introduit les manipulations. Il faut à tout prix tuer ces cellules ou ces spores gênantes, il faut *stériliser* le milieu où l'on doit provoquer le développement d'une espèce donnée, et cela d'une façon certaine et absolue.

C'est Pasteur qui, dans ses recherches sur la génération spontanée (1), a, le premier, fait ressortir l'importance extrême d'une *stérilisation* absolue des milieux et appareils à employer. On doit considérer avec lui cette opération *comme la véritable base des études bactériologiques.*

Les différents agents qui tuent les Bactéries peuvent être employés à stériliser, pourvu qu'ils n'altèrent pas le milieu soumis à leur action. Aussi est-on forcé de faire un choix; on ne peut se servir que rarement de réactifs chimiques et, parmi les agents physiques, celui qui a le plus d'application est la chaleur; l'emploi de filtres pouvant retenir les Bactéries vient immédiatement après.

1. Stérilisation par les agents chimiques.

Les instruments, les vases, peuvent être désinfectés avec la solution de sublimé à 1 p. 100, l'alcool à 95° ou l'acide sulfurique. Et encore l'action de ces substances doit-elle être continuée pendant un temps assez long pour qu'elles puissent agir sur les spores à membrane résistante. C'est le seul emploi de ces *stérilisateurs chimiques* qui, dans aucun cas, ne peuvent être appliqués aux milieux eux-mêmes, à cause des modifications profondes qu'ils leur feraient subir. Aussi l'usage en est-il très limité et les met-on complètement de côté, et avec raison, lorsqu'il est possible de faire agir une cause plus sûre et plus facile à manier, la chaleur.

(1) Pasteur, Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère (*Ann. de chim. et de phys.*, LXIV, 1862).

2. Stérilisation par la chaleur.

On peut employer soit la chaleur sèche, soit la chaleur humide.

1° *Stérilisation par la chaleur sèche.*

Le procédé le plus simple est le flambage qui s'obtient en passant, pendant un temps suffisant, dans la flamme du gaz ou de l'alcool, les objets que l'on veut stériliser. On s'en sert couramment pour les fils de platine, les menus objets en verre, en porcelaine, même pour les instruments d'acier ; ces derniers, il faut le dire, ne se trouvent pas trop bien du traitement. Les appareils les plus commodes pour ce mode de stérilisation sont le *four de Pasteur* et le *stérilisateur à air chaud* décrits précédemment (p. 148). A cause de la résistance de certains germes aux températures élevées, il faut user de hautes températures, 150° par exemple.

On ne peut naturellement soumettre à ce procédé de stérilisation que les objets qui ne sont pas altérés par de telles températures : la verrerie, les instruments peu délicats par exemple ; il ne peut pas être question de l'employer pour les milieux de culture pour lesquels on doit user de la chaleur humide. Pour éviter les bris trop fréquents, la verrerie doit être refroidie lentement et jamais brusquement.

2° *Stérilisation par la chaleur humide.*

Cette stérilisation peut s'opérer à une température inférieure à 100° ou à une température supérieure à 100 degrés.

L'*ébullition simple* peut suffire ; c'est en tout cas un moyen très commode n'exigeant qu'un bec de gaz ou une forte lampe à alcool. On n'en doit jamais faire usage cependant que pour des milieux de petit volume, des tubes à essai ou des petits ballons, par exemple. On les promène dans la flamme de manière à soumettre à la température de 100° successivement les différentes couches du liquide et même le vase lui-même, y compris la bourre de coton ou le bouchon qui le ferme. C'est un procédé dont il ne faut se servir, disons-le, qu'à défaut d'autres, quand on ne dispose que d'une installation tout à fait provisoire. Nombreuses, en effet, sont les Bactéries dont les spores supportent, sans perdre la faculté de germer, des températures supérieures à 100° pendant un temps assez long. Il faut cependant reconnaître que la simple ébullition dans l'eau est un procédé très applicable pour la stérilisation des instruments que l'on destine aux expérimentations. Pour éviter toute détérioration, il est à recommander pour les instruments d'acier d'ajouter à l'eau une petite quantité de borax. Les instruments ordinaires de petit volume peuvent être stérilisés après un quart d'heure d'ébullition.

Le *chauffage au bain-marie* ordinaire, quoique ne donnant pas une température supérieure, est de beaucoup préférable, parce qu'on peut maintenir la chaleur le temps nécessaire pour vaincre la résistance de la plupart des germes. Tout ustensile de forme et de dimensions convenables, où l'on peut faire bouillir de l'eau, peut servir de bain-marie. On doit s'appliquer à y maintenir les appareils que l'on va soumettre à l'action de l'eau bouillante, de façon qu'ils ne puissent pas être dérangés

par l'ébullition et que leurs orifices, bouchés avec des tampons de coton, soient préservés des projections du liquide, tout en ayant soin de les faire plonger le plus possible dans le bain pour qu'ils soient soumis à son action sur la plus grande surface possible. Ceci s'obtient en usant de petits paniers en toile métallique, de supports à pinces, de tout autre moyen qu'on pourra imaginer et en réglant la chauffe pour éviter une ébullition tumultueuse.

Le procédé courant de stérilisation appliqué dans les laboratoires est la *stérilisation à la vapeur d'eau*, cette vapeur pouvant être utilisée à la pression normale, elle est alors à la température fixe de 100°, ou sous pression, à une température d'autant plus élevée que la pression est plus forte.

Le chauffage à 100° s'opère avec toute facilité dans le *stérilisateur à vapeur* dont le mécanisme et le mode de fonctionnement ont été décrits précédemment (p. 149). Le temps que les objets à stériliser doivent y séjourner varie suivant leur volume. Les pommes de terre doivent y rester une heure, les tubes à gélatine et à gélose, les ballons de faible capacité, de une heure et demie à deux heures. Le temps utile pour la stérilisation ne doit être compté qu'à partir du moment où la vapeur se dégage régulièrement par l'interstice annulaire du couvercle.

L'application de températures plus élevées, 100-120° et plus, s'obtient à l'aide de l'*autoclave de Chamberland* (Voy. p. 151). Avec cet appareil, on arrive très facilement à maintenir pendant deux heures et plus des températures de 115-120°, tout à fait suffisantes pour détruire d'une façon absolue la vitalité des spores les plus résistantes. Les bouillons supportent d'ordinaire très bien ces hautes températures ; elles semblent même plutôt favorables à leur bonne qualité, en favorisant la production de peptones aux dépens des albuminoïdes. Il n'en est malheureusement pas de même de certaines gelées nutritives. La gélatine de qualité inférieure s'altère très vite. Déjà lorsqu'on la chauffe longtemps à 100°, elle peut perdre la propriété de se prendre en gelée par refroidissement. A une température supérieure, les modifications peuvent être plus profondes. Au-dessus de 106°, elle dégage de l'ammoniaque, puis il se forme à ses dépens des produits très solubles et même déliquescents ; elle devient un véritable bouillon. La gélatine extrafine supporte très bien 120° ; il ne faut cependant pas l'exposer trop souvent à cette température. La gélose supporte plus facilement la chaleur; maintenue cependant trop longtemps aux environs de 120°, elle brunit et se transforme en un liquide visqueux renfermant des produits ulmiques.

De ces données, il résulte que l'emploi des hautes températures, 110°-120°, donne d'excellents résultats et est à ériger en méthode générale de stérilisation; les autres procédés doivent être réservés pour les cas où il n'est pas possible de se servir de l'autoclave. La simple stérilisation à la vapeur, à 100°, peut du reste être répétée plusieurs fois pour augmenter les chances de l'opération.

On peut aussi obtenir des températures élevées à l'aide de bains d'huile ou du bain-marie à chlorure de calcium décrit page 152. L'emploi de ce procédé complique trop le manuel opératoire, pour qu'il soit à recommander. Il n'est du reste praticable que pour les milieux pouvant être enfermés dans des ballons scellés, maintenus immergés dans le liquide.

3° *Stérilisation par chauffages répétés.*

La facilité avec laquelle est stérilisé un milieu de culture donné est en rapport inverse de sa puissance nutritive. Un liquide peu nutritif, les liqueurs minérales de Pasteur ou de Cohn, porté à des températures de 70° à 80°, peut rester indéfiniment limpide. D'après Pasteur, une ébullition de deux ou trois minutes suffit pour préserver l'*eau de levure* de toute altération. Pour Miquel (1), il n'y a là qu'une *stérilisation apparente*, due à ce que le milieu n'exerce pas, sur les quelques germes qu'il peut encore contenir, une excitation suffisante pour les faire sortir de leur état de vie latente. La preuve en est que si l'on vient à ajouter, avec toutes précautions nécessaires pour n'en pas introduire d'autres naturellement, quelques centimètres cubes de bon bouillon, on voit souvent le mélange des deux liqueurs se troubler et montrer des quantités de Bactéries, alors que séparément elles seraient restées absolument stériles.

Dans bien des cas, cependant, une température de 100° est nuisible. Le sucre, plusieurs composés ammoniacaux, peuvent se décomposer : l'urée s'hydrate, les albuminoïdes se coagulent ; la gélatine peut se peptoniser et perdre la propriété de se prendre en gelée, si elle est maintenue trop longtemps à un tel degré de chaleur. Ces altérations portent surtout sur les liquides de l'organisme, sérum sanguin et autres, lait ; aussi faut-il fréquemment user, lorsqu'on les emploie, d'un procédé spécial, la stérilisation par *chauffages répétés*.

Les spores seules, on le sait, supportent une température élevée ; les cellules végétatives meurent bien avant elles : une chaleur de 60 à 65° peut être considérée comme mortelle pour elles ; c'est sur ce fait qu'est basée la pasteurisation pouvant n'arrêter que pendant quelque temps le développement de microbes contenus dans des liquides que de plus hautes températures pouvaient altérer. Il est vrai qu'on a décrit des Bactéries se développant fort bien à une température de 74° (2), mais c'est une véritable exception et, de plus, de telles espèces paraissent être rares. Aussi doit-on espérer pouvoir tuer toutes les cellules végétatives que contient un liquide en le soumettant, pendant une demi-heure ou une heure, à une température de 65 degrés. Restent les spores. L'expérience démontre qu'il est possible d'arriver à les tuer, par une série de chauffages successifs à ces mêmes températures, séparés par des intervalles de quelques heures à un jour. Tyndall (3) donnait de ce fait l'explication suivante : placées à une température favorable, 30° à 34°, les spores existantes se mettent facilement à germer ; au bout d'un jour ou deux, la plupart ont rajeuni. Une seconde chauffe à 65° tue d'autant plus facilement les cellules produites qu'elles sont jeunes et par conséquent plus sensibles. On opère de même une troisième fois et une quatrième si on le croit nécessaire ; trois opérations suffisent d'ordinaire. Il est beaucoup plus rationnel d'admettre, avec Duclaux (4), que ces tempé-

(1) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère. Paris, 1882, p. 146.

(2) Van Tieghem, Sur les Bactériacées vivant à la température de 74° (*Bull. de la Soc. Bot.*, 1881, p. 35). — Miquel, Monographie d'un Bacille vivant au delà de 70° centigrades (*Ann. de micr.*, 1888).

(3) Tyndall, Les microbes, traduction française, 1881.

(4) Duclaux, Traité de microbiologie.

ratures employées, bien que ne pouvant tuer les spores, ont une certaine prise sur elles et diminuent d'abord leur résistance, puis finissent par la vaincre complètement.

On peut appliquer ces chauffes successives aux appareils que l'on est obligé de stériliser par ébullition simple ou au bain-marie ; on arrive ainsi, en particulier pour ce dernier mode opératoire, lorsqu'on a acquis une certaine habitude dans la manipulation, à une stérilisation certaine à l'aide de températures de 100 degrés ou au-dessous.

Il existe du reste un excellent critérium de cette opération, dont on ne doit jamais négliger l'emploi. Les conserves mal stérilisées se troublent au bout de trois ou quatre jours à 30 ou 35 degrés. On doit alors se faire une règle de n'employer que des milieux de culture vérifiés à ce point de vue ; la provision faite à l'avance sera mise cinq ou six jours à l'étude et soigneusement vérifiée ce temps écoulé.

Miquel (1), qui se prononce contre ce procédé, cite à l'appui de son dire des espèces dont les spores demandent un ou plusieurs mois pour sortir de leur vie latente. C'est, il faut l'avouer, une exception et une rareté. D'ailleurs, la pratique journalière prouve surabondamment la valeur relative de ce procédé ; toutefois, il est bon de ne l'employer qu'en dernier lieu, lorsqu'il n'est pas possible d'atteindre le résultat cherché à l'aide de méthodes plus sûres et à l'abri de toute critique.

Le mode opératoire est de Tyndall, mais c'est Koch (2) qui a érigé la *stérilisation par chauffages répétés* en véritable méthode, en l'appliquant à la préparation de milieux nutritifs au sérum sanguin qui sont parfois d'une si grande utilité.

Le sérum du sang des différents mammifères, séparé du caillot après la rétraction, peut, sans être modifié dans sa composition ni dans son aspect, supporter pendant longtemps une température de 60° environ. Cette température suffit généralement à tuer les Bactéries qui sont venues contaminer le liquide pendant les manipulations. En répétant la chauffe de 58° à 60° de quatre à six fois avec un intervalle d'un ou deux jours entre chaque opération, on arrive à obtenir un milieu qui, conservé en étuve une semaine ou au delà, se maintient parfaitement intact ; il était donc tout à fait dépourvu de germes.

L'emploi du sérum liquide est peu fréquent ; c'est surtout comme milieu de culture solide qu'il rend des services. Porté à la température de 70°, le liquide se prend en une gelée ferme, de teinte ambrée, légèrement opalescente. L'abaissement de température ne produit plus de liquéfaction : le sérum s'est figé dans la situation qu'il occupait. Voici, dans tous ses détails, la technique indiquée par Koch et suivie dans les laboratoires où l'on ne recueille pas le sérum pur comme nous l'avons indiqué précédemment (p. 178).

Nous prenons le cas le plus compliqué, celui où l'on doit employer du sérum recueilli à l'abattoir, sans précautions particulières et qui a forcément reçu des Bactéries de l'air ou des vases dans lesquels il a été recueilli. Le sang recueilli dans des vases, qu'il est bon de stériliser à l'avance, est mis vingt-quatre à trente-six heures dans un endroit frais.

(1) MIQUEL, Les organismes vivants de l'atmosphère, et *Annuaire de l'Observat. de Montsouris*, 1880-1887.

(2) KOCH, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1882, n° 15.

La coagulation se fait et le caillot se sépare du sérum, clair, de coloration jaunâtre. On décante le sérum et on le répartit dans les appareils de culture. Ce sont d'ordinaire des tubes à essai, stérilisés d'avance au stérilisateur à air chaud, dont on remplit le quart ou le tiers inférieur et qu'on bouche soigneusement avec un tampon d'ouate.

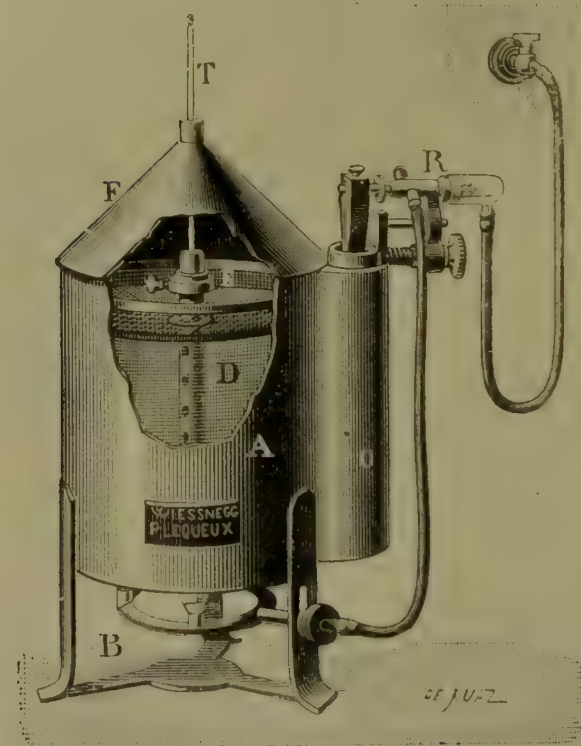


Fig. 72. — Bain-marie muni du régulateur métallique de d'Arsonval.

On stérilise ces tubes au moyen de chauffages répétés à 58-60° que l'on opère dans des appareils à température réglée. La figure 72 représente le bain-marie spécial, muni du régulateur métallique pour la stérilisation du sérum. On remplit d'eau l'espace annulaire et la partie inférieure de la cavité centrale et on y place le panier en toile métallique représenté en place, garni des tubes à essai contenant le sérum. L'eau du bain-marie, naturellement, ne doit jamais atteindre les tampons d'ouate; il est même bon de n'en verser qu'à une distance raisonnable des bouchons. On allume les brûleurs et on observe le thermomètre placé dans la tubulure du couvercle de l'appareil. L'eau contenue dans l'espace annulaire agit sur le régulateur métallique qui est établi comme celui qui a été décrit page 156. Le réglage se fait comme il a été dit pour l'étuve, à une température de 58-59 degrés. Une fois ce réglage établi, le bain-marie est réglé pour cette température, à laquelle il reviendra de lui-même lorsqu'on le rallumera, après refroidissement. Le chauffage dure une demi-heure; il est répété, nous l'avons dit déjà, de quatre à six fois à un jour d'intervalle. L'opération demande une semaine.

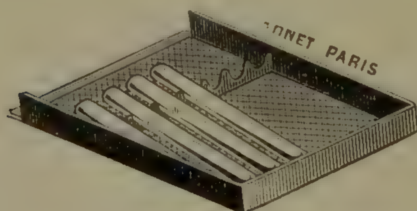


Fig. 73.

On solidifie le sérum en inclinant les tubes de façon à pouvoir utiliser une plus grande surface possible du milieu. Les *coagulateurs de sérum* des figures 74 et 75 répondent mieux au but proposé. L'inclinaison des tubes est obtenue en élevant ou abaissant plus ou moins le support central; le réglage se fait aussi par le régulateur de d'Arsonval. On chauffe doucement l'étuve jusqu'à atteindre une température de 60°; on laisse monter avec plus de précaution encore à 65 degrés. La coagulation s'opère quelquefois à cette température; le plus souvent, il faut arriver à 68° et même pousser à 70 degrés. Le sérum additionné de 6 p. 100 de

glycérine ne se solidifie guère que vers 75°; il faut en être prévenu. On a intérêt à ce que la coagulation se fasse à la plus basse température possible, le milieu en est d'autant plus transparent ; le sérum qui ne se prend qu'au-dessus de 70° est d'ordinaire très opaque. La température à laquelle le liquide s'est solidifié est maintenue une bonne heure; c'est à ce moment que l'on doit faire intervenir l'action du régulateur, que l'on provoque en mettant en place le tube vertical dès que le changement d'état s'est opéré.

La solidification du sérum peut se faire dans d'autres vases que les

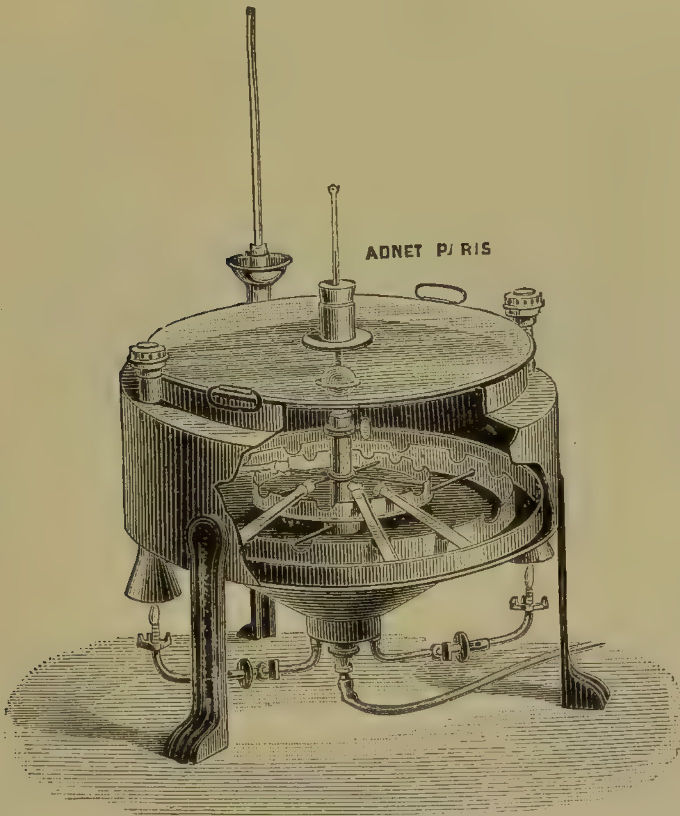


Fig. 74. — Étuve pour coaguler le sérum.

tubes. Les godets, les cristallisoirs que l'on recouvre d'un disque de verre, les petits ballons, sont d'un très bon usage dans les cas spéciaux. Le petit support représenté figure 73 peut alors rendre de grands services; il suffit de le placer, garni de tubes et recouvert d'une plaque de verre, au-dessus d'un bain-marie ou de tout autre vase où de l'eau est maintenue au-dessous de 100 degrés.

Il est très possible d'ajouter au sérum des substances nutritives, une solution concentrée de peptones, de glucose, par exemple; on exalte par là les qualités du milieu. Il faut neutraliser avec soin les liquides que l'on veut additionner, en n'usant que de la plus petite quantité d'eau possible, et les mélanger au sérum fluide avant la stérilisation. Cette addition élève toujours un peu le point de coagulation.

La teinte et la consistance de la gelée obtenue varient toujours quelque peu, suivant l'espèce animale qui a fourni le sang et suivant la façon dont s'est opérée la coagulation et la rétraction du caillot. L'addition de pep-

tones, qui est à recommander (de 1/2 à 1 p. 100), fonce en général la couleur.

Pendant la solidification, il se dégage toujours de la vapeur d'eau qui se condense et vient former un petit amas de liquide à la partie déclive du tube. Cette présence d'eau est favorable : elle empêche la dessiccation trop rapide de la surface et, lorsque la colonie arrive à son contact, elle peut s'y propager et offrir quelques particularités intéressantes de sa culture dans des milieux liquides. Le sérum additionné de 3 à 6 p. 100 de glycérine se dessèche moins et est un précieux milieu pour certaines espèces, le *Bacille de la tuberculose* par exemple.

Il est évident que lorsqu'on peut recueillir du sérum absolument pur

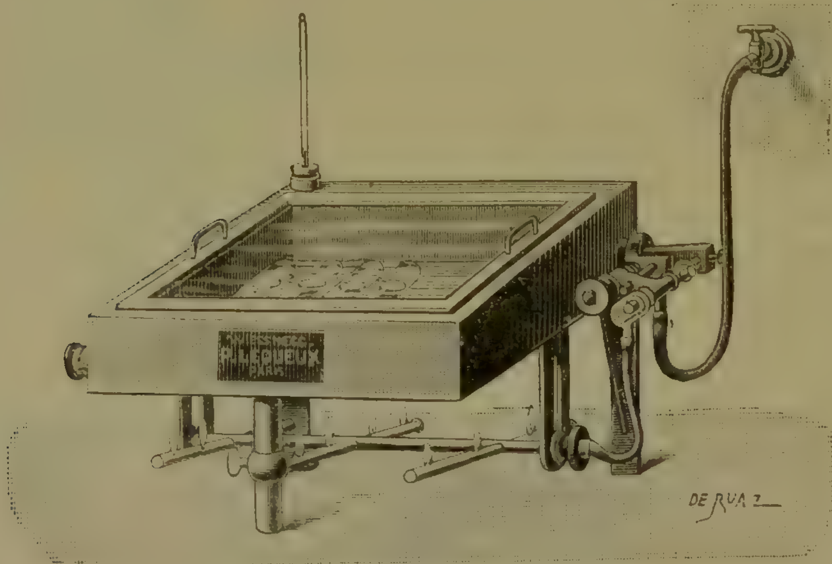


Fig. 75. — Appareil pour coaguler le sérum.

de germes, d'après la méthode de Pasteur, comme cela a été indiqué page 178, les manipulations se trouvent de beaucoup simplifiées. La stérilisation est d'emblée supprimée. On transporte le sérum à l'aide de pipettes stérilisées et on le distribue dans les tubes à essai qui ont été au préalable portés à 140°, pendant un quart d'heure, dans l'étuve sèche. La solidification se fait de suite comme ci-dessus.

La préparation du sérum humain (Voy. p. 182) ne diffère en rien de celle qui vient d'être donnée. Comme d'habitude, on ne dispose que de très faibles quantités de cette sérosité ; il est bon, par économie, de n'en solidifier qu'une mince couche de quelques millimètres sur une masse fondamentale de gélose qui sert simplement de support.

Il est à recommander pour le sérum préparé de cette manière, plus encore que pour les autres milieux que l'on a pu soumettre à des procédés de stérilisation plus rigoureux, de laisser les tubes une semaine au moins à l'étuve ou à une température moyenne avant de les employer, afin de pouvoir écarter ceux qui présenteraient la moindre trace de développement.

Unna (1) a modifié la préparation des milieux au sérum solide, de

(1) Unna, Ueber eine neue Art erstarrten Blutserum und über Blutserumplatten (*Monatshefte für prakt. Dermat.*, V, 1886, nº 9).

façon à pouvoir les soumettre sans modifications défavorables à une température élevée. Il opère comme il suit. A une petite quantité de sérum de sang de veau, on ajoute goutte à goutte, en agitant, de l'eau oxygénée jusqu'à ce que le liquide, de teinte jaunâtre au début, devienne incolore. La quantité d'eau oxygénée à ajouter est à peu près égale à la moitié du sérum employé. Lorsque la réaction est acide, ce qui arrive souvent avec l'eau oxygénée du commerce, il faut neutraliser au carbonate de soude jusqu'à légère réaction alcaline. Le sérum ainsi modifié se laisse facilement filtrer. De plus, il ne se coagule qu'à une température bien plus élevée, de 90 à 120 degrés. Le mieux pour y arriver est de le chauffer dans une petite étuve à huile. Quand la solidification est complète, on maintient la température pendant une heure environ pour obtenir un coagulum bien ferme ; il se dégage une assez grande quantité d'eau de condensation, qui se réunit dans les parties froides du tube. On rejette cette eau et on remet les tubes dans le stérilisateur à vapeur où ils doivent rester une demi-heure.

Ces procédés de stérilisation du sérum ont eu une très grande importance tant que ce milieu était le seul qui permettait d'obtenir le développement de certaines espèces de Bactéries, le Bacille de la tuberculose, le Gonocoque, entre autres. Ils en ont une bien moindre aujourd'hui que l'on a obtenu d'autres milieux de culture plus faciles à préparer et permettant une végétation plus abondante même de ces microbes. Malgré tout, nous verrons chemin faisant que c'est encore un milieu très employé.

3. Stérilisation par filtration.

Le degré de chaleur, qui est nécessaire pour tuer les germes d'une manière sûre, altère bien des milieux nutritifs, les liquides organiques surtout, dans leur composition ou dans la forme sous laquelle on veut les utiliser. Pour les obtenir purs de tous germes, sans les modifier, Pasteur (1) a imaginé de les filtrer à travers des corps poreux, à orifices extrêmement fins; c'est le procédé de *stérilisation par filtration à froid*. Les papiers à filtrer les plus épais laissent très facilement passer les Bactéries de petite taille et surtout les spores, même en superposant plusieurs doubles l'un sur l'autre; on n'a pu songer à s'y adresser. Pasteur s'est servi, au début, de tampons de plâtre; la filtration était hâtée en faisant le vide dans le récipient inférieur, où s'écoulait le liquide pur. Miquel et Benoist (2) ont employé des dispositifs semblables où la plaque filtrante était faite d'amiante et de plâtre mêlés; ils obtenaient une filtration assez rapide en faisant le vide dans le vase où était recueilli le liquide filtré, ou en faisant agir une forte pression dans le récipient supérieur où se trouvait le liquide impur. Les liquides qui ont filtré à travers le plâtre sont plus ou moins chargés de sulfate de chaux et, de plus, la plaque filtrante demande à être renouvelée à chaque opération. Aussi préfère-t-on user de filtres fabriqués avec de l'argile cuite, de la terre de pipe, du biscuit. Les bougies de porcelaine dégourdie à 1200°, imaginées par Chamberland (3), constituent des appareils filtrateurs parfaits. Les

(1) Pasteur et Joubert, *C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXV, 1877, p. 101.
(2) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère, p. 161.
(3) Chamberland, *Soc. de Biol.*, 1882.

bougies de porcelaine d'amiante de Garros donnent encore de meilleurs résultats au point de vue des liquides filtrés. Tout le monde connaît l'appareil représenté par la figure 76, très employé sous le nom de *filtre Chamberland*, pour la purification des eaux potables et qui peut être appliqué à la filtration des milieux à employer pour les cultures, en

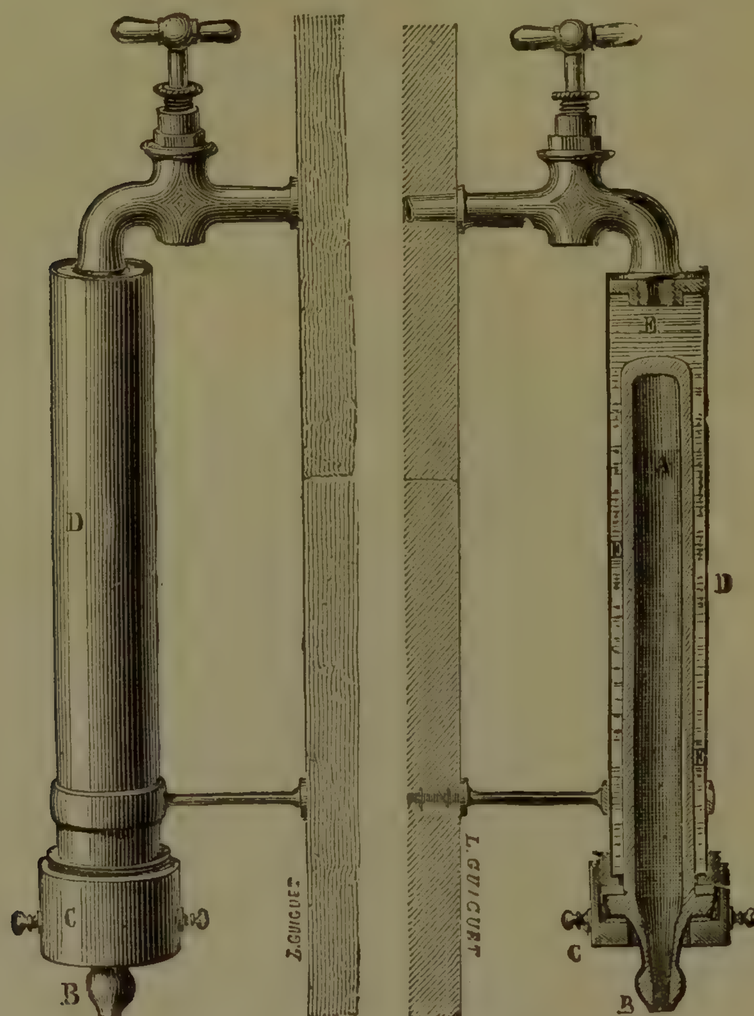


Fig. 76. — Filtre Chamberland.

modifiant légèrement son dispositif. Il consiste essentiellement en une bougie A, de porcelaine dégourdie, fermée à un bout et terminée à l'autre par un teton ouvert. Cette bougie est fortement maintenue dans une enveloppe cylindrique D, par une armature vissée G, de telle sorte que son extrémité ouverte B sorte seule à la partie inférieure. Toute communication de la cavité de l'enveloppe avec l'extérieur est empêchée par un anneau de caoutchouc que la pièce C comprime fortement. La majeure partie de la bougie se trouve donc libre dans la cavité E de l'enveloppe où arrive, sous pression, le liquide à filtrer. Pour l'eau, il suffit de visser la pièce métallique à un robinet branché sur la canalisation. Le liquide est obtenu très pur, si l'on a eu soin de stériliser la bougie à une haute température, à l'autoclave à 120° par exemple, avant l'opération, et de le recueillir dans des vases exempts de germes. Lorsque le filtre a

fonctionné quelque temps et que les pores de la bougie peuvent être obstrués en partie par les sédiments déposés à la surface, on la brosse fortement à grande eau et on la fait bouillir longtemps dans de l'eau acidulée pour détruire toute la matière organique qui peut l'imprégner.

Le *filtre de Garros* (1), à bougie de porcelaine d'amiante (fig. 78), a

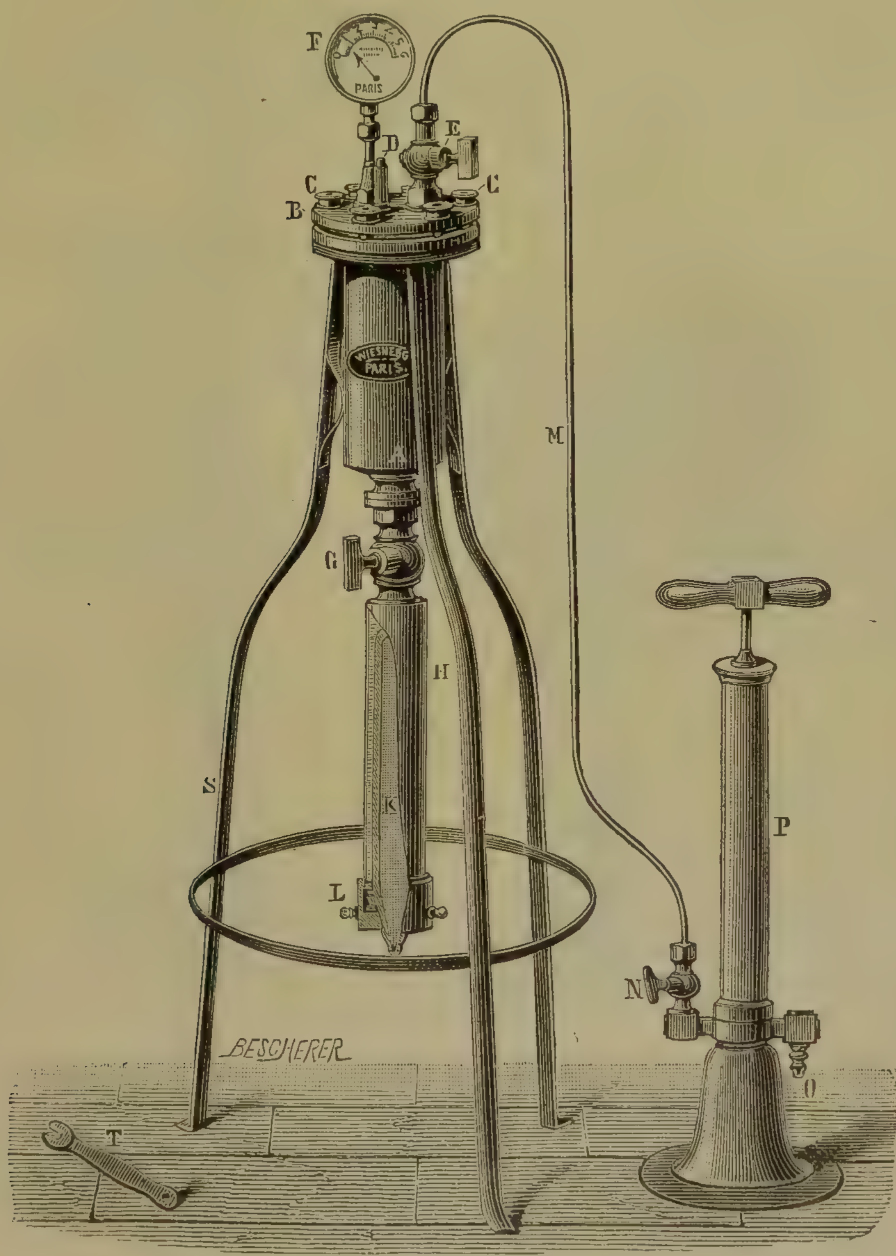


Fig. 77. — Filtre à pression graduée.

une disposition un peu différente, dont il est facile de se rendre compte d'après le dessin donné. Il s'utilise comme le filtre Chamberland.

La disposition représentée figure 79, et imaginée par Novy, permet de mieux suivre la marche de l'opération. Le réservoir est en verre, d'un

(1) Garros, Sur une nouvelle porcelaine : porcelaine d'amiante (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1891, p. 864).

seul morceau. L'adaptation parfaite de la bougie se fait à l'aide d'un disque de caoutchouc et d'une armature métallique à vis.

Les liquides ne filtrent que très lentement dans ces appareils quand l'opération n'est pas aidée par une pression convenable. Les solutions visqueuses, en particulier, ne passent pas du tout. Aussi est-il nécessaire de pouvoir faire agir sur le liquide à filtrer une pression que l'on peut graduer à volonté. L'appareil représenté figure 77 est très propre à tous ces usages. Le liquide qui doit être filtré est placé dans le récipient A, en cuivre, à parois solides, dont le couvercle B se fixe avec de fortes vis de pression C. Ce réservoir porte à sa partie inférieure un filtre

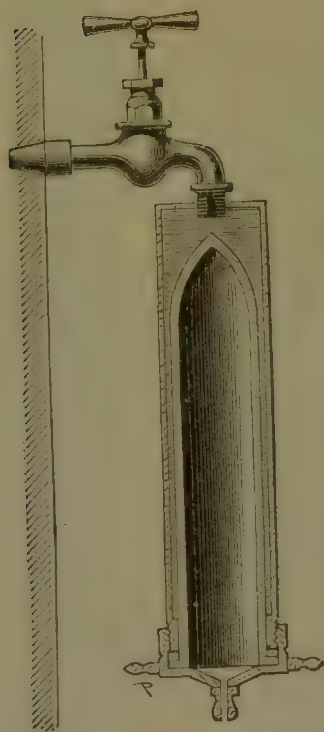


Fig. 78. — Filtre de Garros (Adnet).

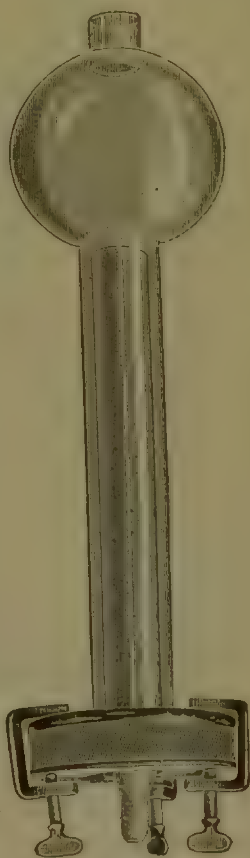


Fig. 79. — Appareil à filtration de Novy (Lautenschläger).

en tout semblable au filtre Chamberland, dont nous venons de donner la description. Un robinet G règle le passage du liquide du réservoir dans l'espace qui entoure la bougie K. La pression s'obtient à l'aide d'une pompe aspirante et foulante de Gay-Lussac B, qui se relie à une tubulure à robinet E que porte le couvercle du réservoir. Un manomètre F indique la pression obtenue. La bougie doit être soigneusement stérilisée à chaud et fermée encore chaude, par un tampon d'ouate, pour empêcher l'entrée d'air contaminé lors du refroidissement. On peut la terminer par un trocart aigu que l'on fait pénétrer chaud à travers le tampon d'ouate qui bouche le ballon stérilisé où doit être recueilli le liquide. L'appareil est coûteux, mais il convient parfaitement pour stériliser facilement bien des liquides nutritifs. La bougie se nettoie comme

précédemment ou en la passant au feu après l'avoir bien lavée. Il est plutôt à recommander de prendre une bougie neuve à chaque opération de quelque importance.

Duclaux a employé, dans ses études sur le lait (1), un appareil très simple et peu coûteux, pouvant rendre de grands services pour la stérilisation à froid (fig. 80). C'est un ballon A, dont le col a été étiré en *a* et auquel on a soudé deux tubulures latérales *c* et *b*. La tubulure *c* est étirée en pointe et fermée ; la seconde *b* est laissée ouverte, et fermée seulement par un tampon de coton. En *a*, on ajuste un tube en terre de pipe, poreuse, fermé par l'extrémité inférieure, qui plonge dans le liquide et est fixé en *a* par du mastic de façon à laisser libre son orifice. L'appareil, stérilisé dans l'étuve sèche, est réuni en *b* à une trompe et en *d*, par sa partie supérieure débouchée, à un réservoir contenant le liquide à stériliser. Sous l'influence du vide fait en A, le liquide filtre rapidement à travers le tube de terre poreuse.

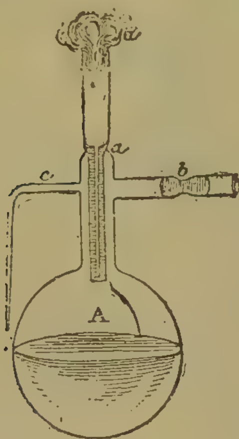


Fig. 80. — Appareil de Duclaux pour la stérilisation du lait.

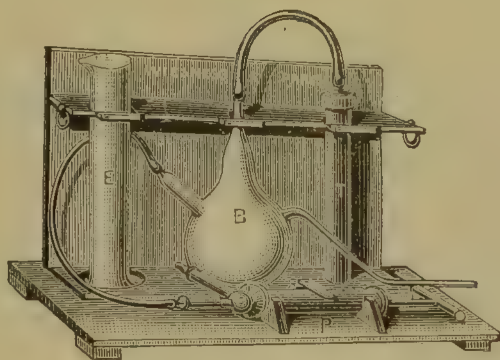


Fig. 81. — Appareil de Chamberland pour la stérilisation par filtration.

Le petit appareil représenté figure 81, imaginé par Chamberland, est des plus commodes. Il se compose d'une pompe P, d'une éprouvette E, où se place le liquide à filtrer, d'une bougie ordinaire T et d'un ballon à trois tubulures B. La bougie est reliée au ballon par un tube en caoutchouc disposé comme le représente le dessin. La bougie, le tube en caoutchouc et le ballon sont stérilisés dans l'autoclave à 120 degrés. Une tubulure latérale du ballon, la plus mince, est fermée, l'autre obturée par un tampon d'ouate. On fait plonger la bougie dans l'éprouvette E et on raréfie l'air du ballon avec la pompe. Le liquide passe dans un ballon, où on peut directement l'utiliser ou le répartir dans des vases stérilisés, en employant les précautions nécessaires pour éviter la contamination.

Le petit appareil représenté figure 82, et imaginé par Kitasato, n'est qu'un perfectionnement de celui de Duclaux représenté figure 80. Le liquide se met dans l'entonnoir supérieur qui se termine par une bougie filtrante soigneusement réunie au flacon récepteur par un bon bouchon de caoutchouc ; la tubulure latérale de ce flacon sert à faire agir une aspiration.

(1) Duclaux, Le lait, études chimiques et microbiologiques. Paris, J.-B. Baillière, 1887, p. 92.

L'appareil de Reichel (fig. 83) est plus simple et plus commode. Le flacon de verre est muni de deux tubulures dont l'une est reliée à la

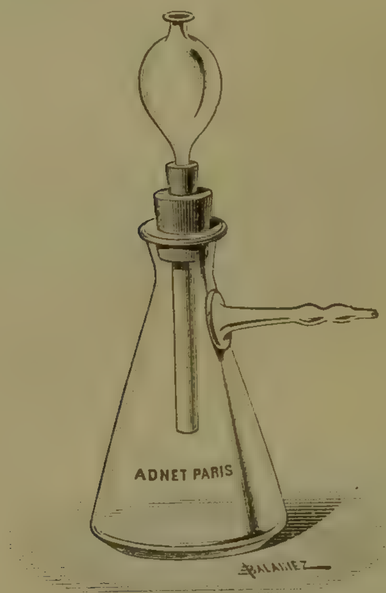


Fig. 82. — Filtre de Kitasato.



Fig. 83. — Filtre de Reichel.

machine à vide, l'autre sert à soutirer le liquide filtré. Le liquide se place directement dans la bougie de porcelaine, plus grosse, dont l'extrémité aplatie s'adapte au col du flacon au moyen d'un disque d'amiante interposé et d'un petit collier de caoutchouc. Le vide rend l'application parfaite.

Pour ces filtrations

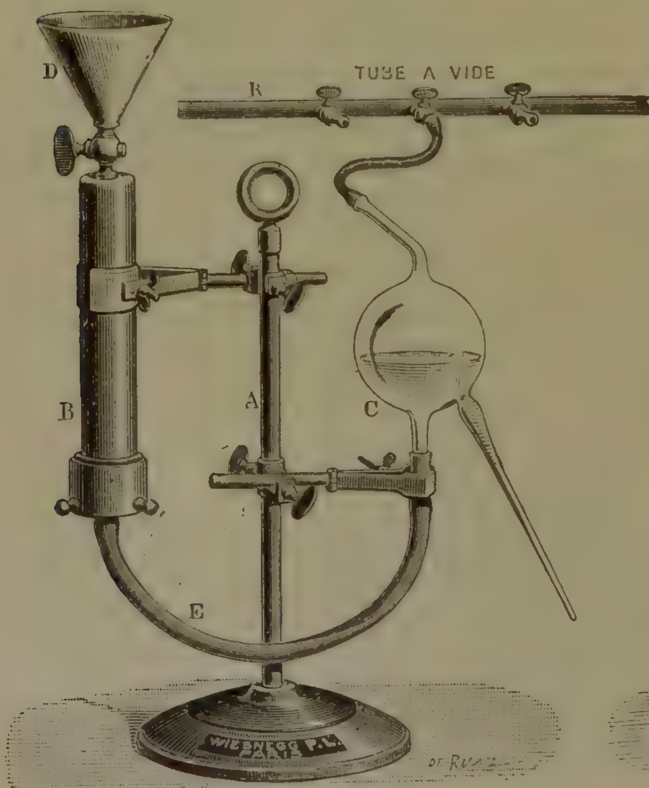


Fig. 84. — Appareil à filtration de L. Martin.

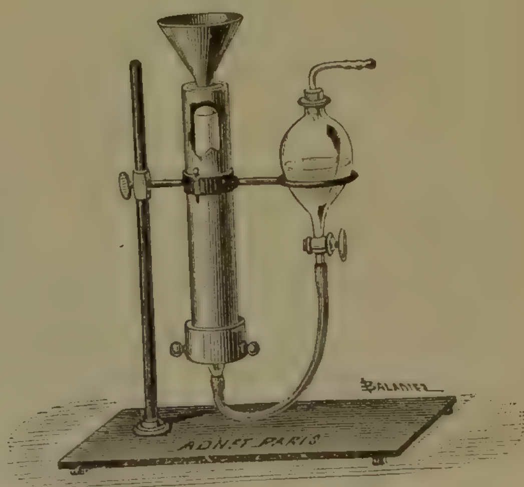


Fig. 85. — Appareil à filtration.

avec aspiration, l'appareil de L. Martin est des plus commodes à employer; les figures 84 et 85 en représentent deux dispositions. Il est formé d'un

filtre Chamberland ordinaire dont la bougie est reliée par un tube de caoutchouc épais à un vase récepteur dans lequel on peut faire le vide. Sur le manchon métallique du filtre se visse un entonnoir



Fig. 86. — Appareil à filtration.

en zinc qui reçoit le liquide à filtrer. Le vase récepteur peut être celui représenté par la figure ; l'aspiration se fait par le tube supérieur. Il est beaucoup plus commode de se servir pour cela d'une

pipette Chamberland à deux tubulures, telle que celle qui est représentée figure 87. La tubulure supérieure est réunie à la bougie filtrante par un tube à vide ; la tubulure latérale est réunie à l'appareil d'aspiration. L'aspiration se fait au mieux à l'aide d'une trompe à eau que possèdent tous les laboratoires ; l'appareil figures 88 et 89 est d'un très bon emploi.

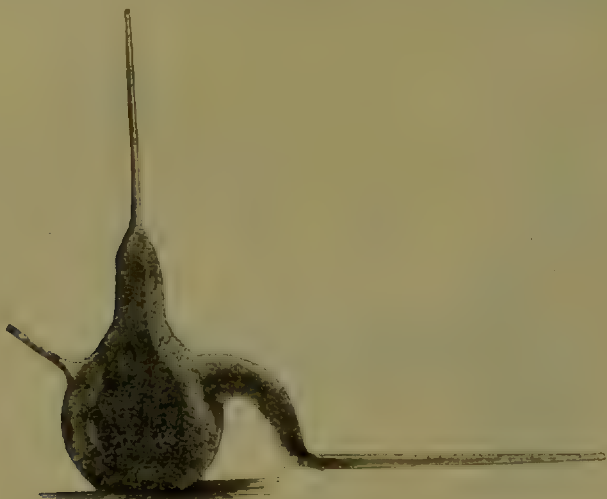


Fig. 87. — Pipette pour filtration.

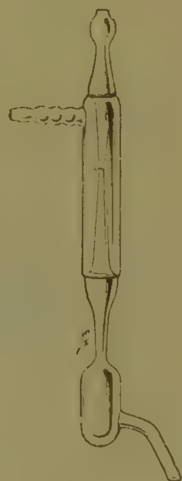


Fig. 88. — Trompe à eau.

Le petit modèle représenté figure 88 rend de réels services ; facile à démonter et à monter sur tous les robinets, on peut le mettre rapidement à la place voulue. Lorsqu'on dispose d'une pression d'eau suffisante, il est facile, à l'aide de ces trompes, d'arriver rapidement à un vide de 70 à 72 centimètres de mercure.

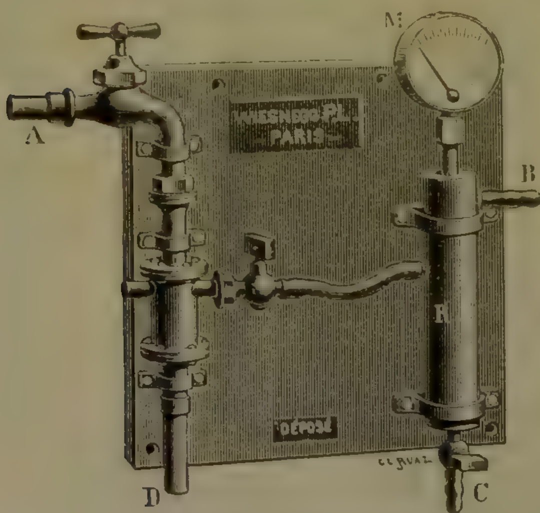


Fig. 89. — Trompe à eau métallique avec réservoir pour éviter les retours d'eau.

La disposition représentée figure 86 permet de filtrer rapidement de grandes quantités de liquides, en usant d'un flacon à tubulures de contenance suffisante, et de répartir le filtrat à volonté.

Tout l'appareil, filtre et vase récepteur, peut être stérilisé en bloc à l'autoclave, ou bien le flacon récepteur peut être stérilisé à part dans le stérilisateur à air chaud et n'être réuni au tube de caoutchouc du filtre qu'au moment du besoin, en prenant les précautions voulues pour ne pas introduire de germes. Il est à recommander de mouiller légèrement la bougie du filtre en la lavant extérieurement et intérieurement avant de la mettre à stériliser ; l'action de la température est plus assurée. La tubulure du vase récepteur destinée à être réunie à la trompe doit être munie, avant la stérilisation, d'un tampon d'ouate destiné à éviter l'apport de poussières par le tube

qui la réunit à la trompe : ce tampon doit être assez lâche pour laisser passer facilement l'air.

L'aspiration nécessaire à employer varie avec la consistance, la viscosité du liquide à filtrer et la résistance de la bougie. Certains liquides filtrent rapidement avec une aspiration de 20 à 40 centimètres de mercure ; d'autres ne filtrent que lentement avec une aspiration maxima de 70 à 72 centimètres. Les bougies épaisses et peu poreuses filtrent plus lentement. Pour les liquides troubles qui tiennent en suspension de fines particules, il est à recommander, pour rendre plus rapide la filtration sur bougie, de filtrer d'abord sur papier afin d'enlever les particules qui se déposeraient à la surface de la bougie et diminueraient sa porosité.

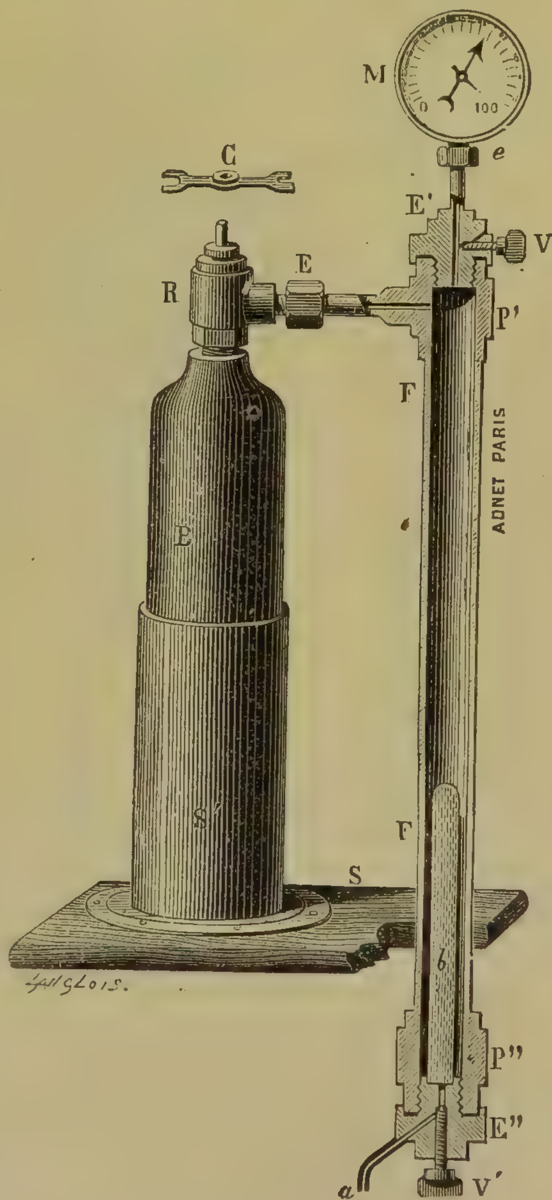


Fig. 90. — Appareil à filtration de d'Arsonval.

Au lieu d'employer l'aspiration pour hâter la filtration sur bougie, on peut se servir de la pression. L'appareil représenté figure 76 conduit déjà à ce but. D'Arsonval a imaginé, pour stériliser les liquides organiques, un appareil (fig. 90) qui permet de joindre à la filtration sur bougie d'alumine l'action microbicide de l'acide carbonique à haute pression. La bougie d'alumine *b* est placée à la partie inférieure d'un manchon de cuivre F qui reçoit le liquide à stériliser et peut être mis par sa partie supérieure en communication avec une bouteille d'acier contenant de l'acide carbonique liquide. On arrive ainsi facilement à faire agir une pression de 40 à 50 atmosphères, montant même à 60 atmosphères si l'on plonge la bouteille à acide carbonique dans de l'eau chaude. Le manomètre M indique la pression. Le liquide qui filtre sort par l'ajutage *a* qui est commandé par la vis V′ et peut être recueilli aseptiquement.

Quelle est, au point de vue de la stérilisation des liquides, la valeur de cette filtration sur bougies de porcelaine ou d'alumine ? L'expérience démontre que toutes ces bougies se laissent, au bout d'un certain temps, traverser par des microbes et ne peuvent, par conséquent, être considérées comme des filtres parfaits ; le temps nécessaire pour que ce passage

puisse avoir lieu paraît être de deux à trois jours. Avant cette durée, en opérant dans de bonnes conditions, la stérilisation est assurée. Lorsqu'une bougie a servi pour une filtration, il est nécessaire de la nettoyer pour s'en servir à nouveau ; les fines particules du liquide qui se sont déposées à sa surface ont pu en partie obstruer ses pores ; les liquides albumineux laissent souvent un enduit visqueux, adhérent, qui fait obstacle à la filtration. Il faut laver la bougie sous un courant d'eau, en la brossant avec une brosse dure, puis la passer ou même la laisser séjourner dans de l'eau alcalinisée ou acidulée, selon la nature de la substance qui a filtré. On peut même être obligé, pour lui rendre sa perméabilité, de la chauffer au rouge sombre dans la flamme d'un bec Bunsen ou, mieux, sur un réchaud à charbon. Toute bougie, avant l'usage, devra naturellement être éprouvée avec soin, pour s'assurer qu'elle ne porte aucune fissure. Pour ce faire, on plonge dans l'eau la bougie à essayer et on y comprime de l'air à l'aide, par exemple, de la petite pompe de l'appareil représenté figure 60 ou de tout autre moyen. À la moindre fissure, on voit de petites bulles d'air sortir à l'endroit voulu.

Ces procédés de *stérilisation par filtration* ne sont cependant pas sans exercer une influence sur la composition chimique des liquides sur lesquels on opère. Il semble au contraire se produire, avec certaines substances, des modifications très importantes, dues probablement à des phénomènes de dialyse. D'après Duclaux (1), le lait ainsi traité laisse sur la bougie filtrante une bonne partie de sa caséine sous forme d'un enduit visqueux blanc grisâtre. Le liquide qui passe est modifié dans son aspect et dans sa composition.

Le sérum du sang filtre facilement avec une assez forte aspiration, surtout lorsqu'il ne contient pas de globules qui, en se déposant sur la bougie, diminuent sa porosité. La filtration est plus rapide si l'on opère à une température un peu élevée, vers 40 à 50 degrés surtout. C'est un moyen simple et sûr de se procurer du sérum stérilisé lorsqu'on ne peut pas recourir à la saignée aseptique et qu'on veut éviter la stérilisation par chauffages répétés, toujours longue et donnant une certitude moindre. Malgré la séparation de certains principes albumineux qui restent sur la bougie sous forme d'un enduit visqueux, les propriétés du milieu n'en paraissent pas modifiées.

Il est cependant des substances sur lesquelles la bougie de porcelaine peut agir, bien que formée d'une manière absolument inerte. Ses effets peuvent être purement physiques ; corps éminemment poreux, elle semble, comme tous les corps poreux, avoir plus d'attraction pour certaines substances ; elle les retient avec plus ou moins de force, elle les condense pour ainsi dire et peut alors appauvrir d'autant le liquide qui a filtré. Ou bien les modifications sont plus profondes et aboutissent à une véritable transformation ou même destruction de certains produits ; ces effets sont dus probablement à l'action oxydante de l'oxygène de l'air qui remplit les pores. Cette influence est particulièrement sensible sur ces substances albuminoïdes d'origine microbienne que nous avons nommées *toxines*, sur les *antitoxines*, sur des produits de propriétés similaires comme les virus. Les recherches de Dzierz-

(1) Duclaux, Le lait, p. 101.

gowski (1) prouvent que la filtration sur bougie affaiblit quelque peu l'activité des liquides renfermant des produits toxiques microbiens ; cette action toutefois n'est bien sensible qu'au début d'une filtration ; elle a donc peu d'importance lorsque la quantité du liquide à filtrer est tant soit peu considérable. L'effet produit sur les venins, observé par Phisalix (2), est plus marqué, peut-être à cause de la plus grande richesse en principes actifs. La bougie sur laquelle on filtre du venin de vipère retient, d'après lui, la substance toxique, de telle sorte que le venin filtré ne tue plus le cobaye, même à forte dose ; de plus, ce qui est du plus haut intérêt, ce liquide vaccine les cobayes à l'égard du venin total. Il y aura peut-être là l'indication d'une méthode facile de préparation de produits vaccinants microbiens.

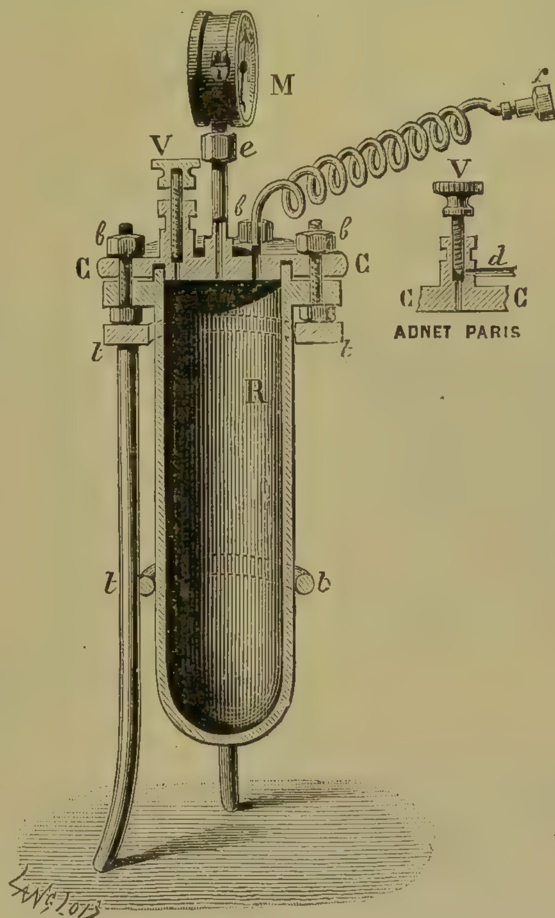


Fig. 91. — Autoclave de d'Arsonval pour stériliser et conserver les liquides organiques.

4. Stérilisation par les gaz sous forte pression.

Dans l'appareil à filtration de d'Arsonval décrit précédemment (p. 211), nous avons vu intervenir l'acide carbonique à forte pression, 40 à 50 atmosphères et plus. D'après ce savant, l'action microbicide de ce gaz est certaine dans ces conditions. Pour les substances qu'on ne peut pas soumettre à la filtration, il a imaginé l'appareil représenté figure 91. C'est un petit autoclave de bronze dans lequel se placent les substances à stériliser contenues dans des vases ouverts ou obturés avec un tampon d'ouate très lâche. Les vases ouverts peuvent être terminés par un tube de verre libre, recourbé vers le bas pour éviter la contamination par les poussières de l'air. L'appareil se réunit à la bouteille à acide carbonique liquide, comme il a été dit pour le filtre page 211. On obtient facilement 40 à 50 atmosphères; en plongeant l'appareil dans de l'eau chaude, la pression monte notablement plus. D'après Sabrazès et Bazin (3), l'action microbicide de l'acide carbonique à ces hautes pressions serait encore douteuse et certainement parfois insuffisante.

(1) Dzierzgowski, Sur la filtration des substances albuminoïdes à propriétés actives (*Arch. des sc. biol. de l'Inst. imp. de méd. de Saint-Pétersbourg*, IV, 1895, p. 225).
(2) Phisalix, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1896.
(3) Sabrazès et Bazin, *Gazette hebd. de Bordeaux*, 1893, p. 411.

4° Procédés de culture.

Les milieux de culture étant obtenus comme il vient d'être indiqué, il faut les disposer de la façon la plus favorable au développement de l'espèce que l'on veut y faire vivre et à l'observation de la culture.

Les liquides sont placés dans des vases de formes variées devant réunir quelques conditions que la pratique apprendra vite à connaître. Ces vases doivent être appropriés au développement, offrir de l'espace et de l'air en suffisance, si l'espèce en a besoin ; commodes pour l'observation, en tant que possible ; et disposés au mieux pour favoriser la conservation de la culture, en s'opposant à la pénétration de germes étrangers, en empêchant une évaporation trop rapide, etc.

Les milieux solides, qui fondent à la chaleur, sont coulés à chaud dans les mêmes récipients. On y dispose les autres, après les avoir partagés en morceaux.

La forme, la contenance des vases qui doivent servir, importent peu au succès des expériences. L'observateur peut les choisir telles qu'il lui plaira ou surtout telles qu'elles lui paraîtront mieux convenir à ses recherches. Il suffit que les appareils remplissent les conditions qui viennent d'être énoncées. La pratique a cependant démontré les avantages de certains procédés ; ce sont ceux-là que nous décrirons avec quelques détails. Il est toujours prudent de stériliser d'avance à l'autoclave ou au stérilisateur à air chaud les vases qui doivent recevoir les milieux. Cette stérilisation est naturellement obligée lorsqu'on doit y transvaser des milieux déjà stérilisés.

1. Cultures en vases fermés.

Cultures en tubes à essai. — Ce sont celles que l'on emploie le plus communément dans les recherches de bactériologie, lorsqu'on a affaire à des espèces pures, parfaitement isolées, que l'on veut multiplier et dont on veut étudier les particularités de développement. On se sert de tubes à essai ordinaires, ayant 1 centimètre 1/2 ou 2 centimètres de diamètre, à fond rond ou droit. Les derniers se placent facilement debout sur les tables ; c'est leur seul avantage. Il est à recommander de stériliser à l'avance les tubes munis de leur bouchon de ouate, dans le stérilisateur à air, à 150° au moins. Ces tubes sont garnis d'une quantité de masse nutritive, bouillon, gélatine, gélose ou sérum, variable suivant leur contenance. On y met à peu près une dizaine de centimètres cubes de gelée, ce qui emplit presque leur tiers inférieur. La gelée fondue est distribuée dans ces tubes à l'aide d'un entonnoir chauffé d'avance à l'eau bouillante pour éviter une solidification trop rapide. L'opération se fait très rapidement en se servant d'un entonnoir à robinet ou, à défaut, d'un entonnoir simple, muni inférieurement d'un tube de caoutchouc portant une pince à pression de Mohr et terminé par un embout de verre. L'appareil à filtration à chaud (fig. 92) peut parfaitement servir. On en comprend le fonctionnement ; les mêmes dispositions sont applicables à des instruments plus simples. La gelée nutritive est répartie dans les tubes à simple vue, à moins qu'il soit utile de n'en prendre qu'une quantité exactement déterminée, dans quelques cas spéciaux, par exemple. Il faut éviter le plus possible de laisser tomber de la gelée sur la paroi interne du tube, à

l'endroit où doit se placer la bourre ; par dessiccation, le bouchon d'ouate adhérerait au verre et pourrait gêner dans des opérations ultérieures. Les tubes sont fermés avec un tampon de ouate hydrophile, qui ne doit être ni trop serré ni trop lâche, mais entrer à frottement un peu dur. En dernier lieu, ils sont portés dans l'appareil à stérilisation. Une heure ou une heure et demie de séjour dans le stérilisateur à vapeur, ou vingt minutes à 120° dans l'autoclave, suffisent amplement pour fournir un résultat certain. Lorsqu'on ne possède qu'une modeste installation, un simple bain-marie peut servir. On y maintient les tubes immergés le plus possible,

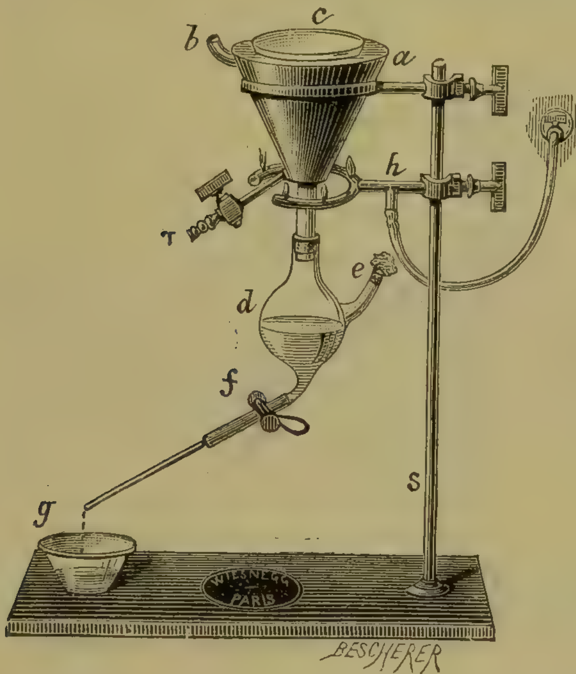


Fig. 92. — Appareil à filtration à chaud.

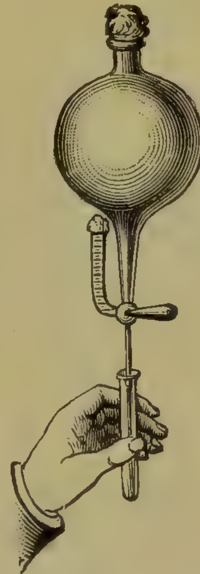


Fig. 93. — Appareil de Trekoff pour mesurer les quantités de milieu.

tout en ne laissant pas l'eau mouiller le tampon d'ouate, et on règle la chauffe de manière à éviter une ébullition tumultueuse qui projetterait du liquide sur les bourres. Il est alors plus sûr de recommencer une seconde fois la même opération à un ou deux jours d'intervalle en employant la méthode du chauffage discontinu. Qu'on use des stérilisateurs ou du bain-marie, il est prudent de recouvrir les tubes d'un linge fin plié pour empêcher la vapeur de trop imbiber le tampon qui les ferme.

Lorsqu'on veut disposer d'une plus grande surface, on se sert de tubes de diamètre fort, 4 à 5 centimètres par exemple.

Pour augmenter la surface libre des gelées sur laquelle doit s'étaler la colonie, on incline les tubes chauds dès leur sortie du stérilisateur et on les laisse refroidir dans cette position. La partie libre du milieu coagulé présente un biseau d'autant plus allongé que l'inclinaison a été plus prononcée. Il faut naturellement éviter d'arriver au contact du tampon d'ouate. Ceci s'obtient très facilement en disposant des tubes presque à plat sur de larges cuvettes remplies de sable, dans lequel on les enfonce plus ou moins pour arriver au degré d'inclinaison voulu.

Si l'on veut mesurer exactement la quantité de milieu à employer, on

peut se servir d'une seringue graduée, de pipettes jaugées, ou mieux d'un petit appareil muni d'un robinet à double jeu, tel que celui représenté figure 93.

Les tubes refroidis, droits ou inclinés, sont prêts à servir. On les garde dans un vase de verre fermé d'un couvercle, pour empêcher une trop rapide évaporation d'eau qui rendrait la surface du milieu sèche et peu propice au développement des colonies. On peut aussi, pour le même motif, les recouvrir de petits capuchons de caoutchouc ou d'une mince feuille de papier d'étain, excellents pour s'opposer à la dessiccation, qui rendent surtout de grands services pour les cultures à température assez élevée, en étuves.

Pour éviter ce même inconvénient, on se trouvera souvent bien de fermer les tubes, au lieu d'un simple tampon d'ouate, d'un bon bouchon traversé par un petit tube de verre d'un faible diamètre dans lequel est légèrement tassée une mèche d'ouate. La déperdition de liquide se fait moins facilement, mais la fermeture est moins assurée.



Fig. 94.

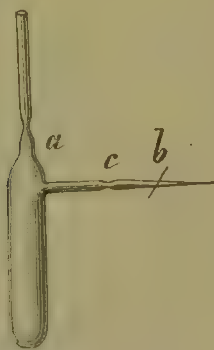


Fig. 95.

Fig. 94 et 95. — Tubes employés au laboratoire de Pasteur pour les cultures dans les bouillons.

Lorsqu'on veut mesurer exactement la quantité de milieu à introduire dans le tube, on peut se servir d'une simple pipette graduée, ou mieux, d'une burette graduée munie d'un robinet ou d'une pince de Morh. On a imaginé des appareils plus commodes où la répartition se fait rapidement et exactement au moyen d'un robinet à trois voies.

Les appareils représentés figures 94 et 95 peuvent rendre de très grands services. Ils sont surtout employés au laboratoire de Pasteur pour les cultures dans les bouillons. Ce sont des tubes en verre assez épais dont le col est étiré et porte un étranglement (*b*, fig. 94, et *a*, fig. 95). Ils sont munis d'une effilure latérale horizontale (fig. 95) ou recourbée verticalement en bas (fig. 94). On introduit un tampon d'ouate dans le col et on le pousse jusqu'à étranglement. Les tubes sont stérilisés à sec à haute température, 150°, pendant une heure ou deux. Pour les remplir, après refroidissement on sépare d'un trait de lime la pointe de l'effilure et on fait entrer le liquide stérilisé en aspirant par l'autre ouverture. L'orifice de l'effilure est rebouché aussitôt à la flamme. Dans ces petits appareils, on peut facilement faire le vide, en réunissant le col à une trompe ; l'effilure latérale sert à laisser entrer un gaz inerte, de l'hydrogène ou de l'azote. L'ensemencement se fait en brisant la pointe de l'effilure et en introduisant par aspiration un peu de liquide contaminé.

Les tubes à réservoir double, comme celui de la figure 96, ont aussi leur utilité. On aspire le liquide stérilisé après avoir cassé la pointe d'une effilure et on le répartit entre les deux branches. L'appareil a été stérilisé d'avance comme les précédents. On peut facilement n'ensemencer qu'un seul côté en aspirant un peu de liquide chargé de germes par une effilure ouverte. L'autre côté sert de témoin. En inclinant le tube et en y laissant passer une faible quantité de liquide de culture, on observe

un nouveau développement. Il est possible d'ensemencer chacune des deux branches avec une espèce différente ; les comparaisons sont ainsi faciles à établir. Chaque branche peut enfin recevoir un liquide spécial et les deux être inoculées avec la même espèce ou des espèces diverses. Ces tubes se placent en séries sur des supports de bois faciles à construire.

Cultures en ballons. — Les ballons servent surtout pour les cultures dans les différents milieux liquides signalés.

On peut employer les ballons ordinaires à fond plat, de capacité variant suivant le besoin. Le col en est bouché avec un bon tampon d'ouate, entrant à frottement dur sans toutefois trop serrer. Dans de tels ballons, l'évaporation se fait assez vite, surtout en étuve.

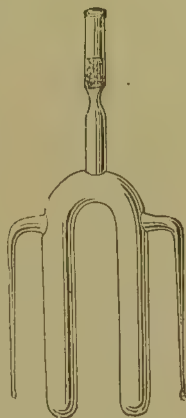


Fig. 96. — Tube à réservoir double.

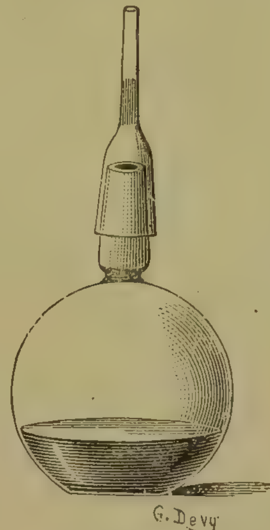


Fig. 97. — Matras Pasteur.

La forme représentée figure 97, connue dans les laboratoires sous le nom de *matras Pasteur*, est à recommander. Un couvercle rodé à l'émeri se place sur le col également rodé ; il se termine par un tube de faible diamètre que l'on bouche avec un petit tampon d'ouate indiqué sur la figure. On remplit l'appareil au tiers ou à moitié à l'aide d'un entonnoir. Pour éviter une adhérence trop forte du couvercle, il est bon de graisser le col avec un peu de vaseline au sublimé après remplissage. Ces ballons se renversent facilement ; aussi a-t-on proposé de les remplacer par des fioles à fermeture semblable, mais à panse cylindrique ou cylindro-conique. On en fait aussi à fond plat et large pour les cultures qui demandent une large surface.

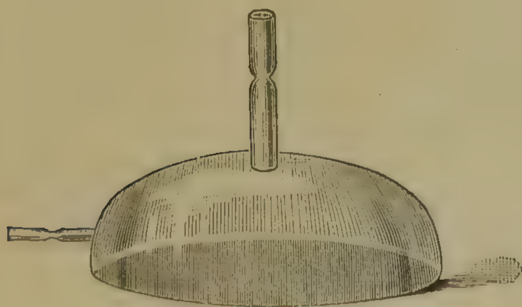


Fig. 98. — Ballon Fernbach.



Fig. 99. — Ballon Petrusky.

Les vases appelés ballons d'Erlenmeyer, à fond large et plat, sont d'un excellent usage et coûtent bien moins cher ; cependant ils s'opposent bien moins à l'évaporation du liquide que le modèle Pasteur. Les formes représentées figures 98 et 99 permettent d'obtenir des cul-

tures sur de larges surfaces et de faire intervenir un courant d'air ou d'un gaz quelconque.

Il est parfois utile d'user de ballons dont le col a été étiré au chalumeau (fig. 100). Pour les remplir, après les avoir stérilisés dans l'air chaud, puis laissé refroidir, on ouvre la pointe d'un trait de lime et on chauffe légèrement le ballon. En plongeant cette pointe dans le liquide nutritif, celui-ci pénètre dans l'intérieur par suite de la diminution de pression déterminée par le refroidissement. La pointe est fermée au chalumeau et le ballon mis à stériliser. L'appareil figure 101, connu sous le nom de *pipette Chamberland*, est infiniment plus commode pour conserver les liquides stérilisés et les répartir ensuite dans d'autres vases sans avoir de contamination à craindre et, dès lors, de nouvelle stérilisation à faire. On bouche le col courbé du ballon avec un tampon d'ouate poussé dans son étranglement et on stérilise dans le four à flamber ou



Fig. 100. — Ballon à col étiré.

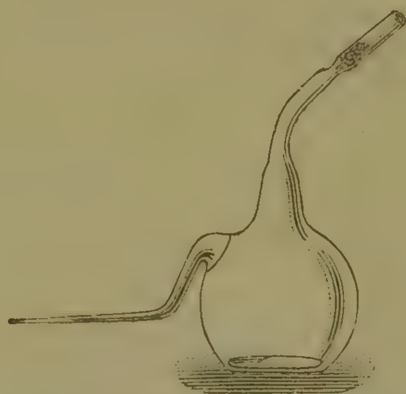


Fig. 101. — Ballon-pipette Chamberland.

l'étuve sèche. Après refroidissement, la pointe du prolongement latéral effilé est coupée à la lime et plongée dans le liquide dont on veut se servir, stérilisé ou recueilli pur de germes ; on remplit en aspirant par l'orifice du col. La pointe est refermée dans la flamme. Il est très facile de puiser du liquide, resté pur ou dans lequel s'est développée une espèce ensemencée. Il suffit d'ouvrir l'effilure et d'en faire couler la quantité voulue en inclinant le vase.

On peut se servir de ballons pour des cultures sur des milieux solides, lorsqu'on désire user d'une large surface. On les garnit d'une couche de 1 à 2 centimètres d'épaisseur de gelée, de bouillie de pomme de terre, etc. ; on les ferme avec de l'ouate et on les stérilise comme les tubes à essai qui contiennent ces mêmes substances.

Culture en tubes clos. — Pasteur (1) usait, dès 1865, pour cultiver en vase clos les espèces dont il étudiait l'action physiologique, de petites lentilles de verre soufflé, fabriquées pour lui en Allemagne par Geissler. L'appareil complet consistait en un tube de petit diamètre sur la longueur duquel était soufflée une lentille plate dont les deux surfaces se trouvaient très rapprochées l'une de l'autre à la partie centrale ; elles n'étaient distantes en ce point que de quelques dixièmes de millimètre. Le tube était rempli de liquide ou n'en contenait qu'une faible quantité, venant se réunir en gouttelette dans la partie centrale déprimée de la

(1) Pasteur, Études sur la bière, 1876, p. 153, note.

lentille. On peut ainsi observer le mode de vie, la multiplication à l'air ou sans air. Tout l'appareil se place facilement sur la platine du microscope et supporte l'emploi des plus forts grossissements, lorsque les parois sont obtenues suffisamment planes et d'une même épaisseur que celle des lamelles couvre-objets.

Salomonsen (1) s'est servi de tubes très fins obtenus en étirant des tubes de verre de 4 à 5 millimètres de diamètre. Il y introduisait un liquide nutritif contenant des germes dont il observait le développement au microscope. La méthode est certainement à reprendre. Vignal (2), nous le verrons plus loin, en a fait l'application à la culture des anaérobies.

Cultures sur pommes de terre. — C'est un excellent milieu de culture pour les Bactéries. Les caractères de cultures sur ce milieu sont parfois assez particuliers pour fournir un appoint important à la diagnose de quelques espèces. L'aspect des colonies y est très varié. Ce sont en général des revêtements épais, visqueux, incolores ou nuancés de teintes plus ou moins vives, suivant l'espèce. Parfois, c'est une couche mince transparente, qu'on ne distingue que difficilement de la substance du tubercule ; c'est le cas du *Bacille typhique*, de certains *Streptocoques*. Les Bactéries chromogènes végètent d'ordinaire très bien sur les pommes de terre ; elles y présentent souvent une coloration plus intense que sur les autres milieux.

Les pommes de terre cuites au stérilisateur, comme il a été indiqué page 193, sont tenues à l'aide de pinces flambées ou entre deux doigts de la main gauche lavés au sublimé. Elles sont coupées en deux ou plus suivant leur volume à l'aide d'un couteau stérilisé, et les morceaux déposés soit isolément dans de petits cristallisoirs couverts stérilisés à l'étuve à air chaud, au fond desquels est une rondelle de papier buvard imbibé d'eau bouillie ou un tampon d'ouate stérilisée mouillée d'eau préalablement bouillie, soit plusieurs ensemble dans des cristallisoirs formant chambre humide. L'inoculation se fait en stries à la surface, à l'aide du fil de platine préalablement rougi dans la flamme, puis refroidi. Les cristallisoirs sont placés à l'étuve.

Esmarch (3) recommande de peler les pommes de terre avant de les cuire, en enlevant une certaine épaisseur de substance. On évite ainsi la contamination par des espèces très communes et difficiles à tuer parce qu'elles pénètrent dans une certaine profondeur de la pelure, surtout les espèces qui ont été nommées *Bacilles de la pomme de terre* (Kartoffelbacillus).

On a employé la bouillie obtenue en broyant les pommes de terre avec un peu d'eau. On en peut garnir le fond d'un flacon d'Erlenmeyer, qu'on stérilise ensuite à la vapeur.

Les contaminations si faciles dans ces cultures sont évitées en se servant de morceaux allongés de pommes de terre crues qu'on introduit dans des tubes à essai bouchés d'ouate. Les tubes sont mis pendant une heure et demie au stérilisateur à vapeur, ou mieux chauffés pendant vingt minutes à 120° dans l'autoclave. Les inoculations se font

(1) Salomonsen, Zur Isolation differenten Bacterien formen (*Bot. Zeit.*, 1886).

(2) Vignal, Sur un moyen d'isolation et de culture des microbes anaérobies (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 358).

(3) Esmarch, Die Bereitung der Kartoffel an Nährboden für Microorganismen (*Centralbl. für Bakt.*, I, 1887, p. 26).

exactement comme pour les cultures en tubes ; les chances de pénétration de germes étrangers, surtout de l'air, sont, par là, très reculées. J'emploie à cet effet, dans mon laboratoire, de grosses éprouvettes en verre de Bohême, pouvant facilement recevoir une moitié de pomme de terre de moyenne taille. Chaque moitié d'une pomme de terre, bien lavée à l'eau et pelée, est placée dans un de ces tubes au fond duquel se trouve un tampon d'ouate destiné à absorber l'eau en excès et à maintenir l'humidité. Ces tubes, bouchés par de forts tampons d'ouate, sont stérilisés à 120°, dans l'autoclave ; on les y laisse une vingtaine de minutes environ pour cuire suffisamment les pommes de terre. Après refroidissement, ils sont ensemencés et coiffés d'un capuchon de caoutchouc ou d'une capsule en étain. Les cultures ainsi faites peuvent se conserver très longtemps à l'étuve ; le tampon mouillé qui se trouve au fond empêche une dessiccation trop rapide. Roux (1) a indiqué une méthode semblable qui peut être parfois avantageuse. Il se sert de gros tubes portant un étranglement vers le quart inférieur. L'étranglement arrête la pomme de terre et la cavité inférieure qu'il limite recueille le liquide qui pourrait gêner. Il est en outre facile de souder une tubulure à la partie inférieure, au-dessous de l'étranglement, ce qui permet de faire le vide dans le tube ou d'y laisser arriver un gaz quelconque. L'appareil n'est guère plus commode et est plus coûteux que le précédent.

On prépare de même des cultures sur autres substances amylacées, empois d'amidon, pâte de pain, riz cuit, carottes, etc.

Cultures sur porte-objet. — Lorsqu'on veut suivre, sous le microscope, pendant un temps assez long, le développement des Bactéries, il faut recourir à un dispositif qui permette l'observation à tout instant en même temps qu'il n'entrave en rien les conditions de nutrition indispensables à la vie.

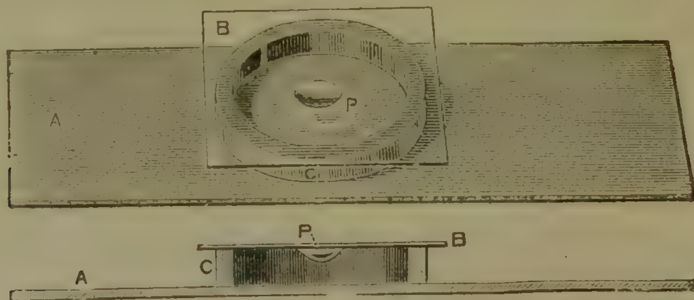


Fig. 102. — Culture en cellule sur porte-objet.

L'usage de cellules de verre, employées depuis longtemps pour l'étude des Champignons inférieurs (2), répond à toutes les nécessités. Ces appareils consistent en un anneau de verre de hauteur et de diamètre variables, collé sur un porte-objet à l'aide de baume de Canada ou de tout autre adhésif (fig. 102, C). La cavité ainsi limitée peut être close en haut par une lamelle qui doit s'appliquer exactement sur le bord supérieur rodé de l'anneau B. Il est facile d'en préparer soi-même. On prend un tube de verre épais de 1 à 2 millimètres et, à l'aide d'une

(1) Roux, De la culture sur pomme de terre (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888, n° 1).

(2) Van Tieghem et Le Monnier, Recherches sur les Mucorinées (*Ann. des sc. nat.*, *Bot.*, 5e sér., t. XVII, 1873).

lime triangulaire et d'un charbon ardent, on en sépare des segments de 5 à 6 millimètres de hauteur. Ces anneaux sont usés à l'émeri sur les bords de façon à les dresser parfaitement et à les amener à être parfaitement parallèles l'un à l'autre. On colle l'anneau sur un porte-objet en garnissant sa face inférieure d'une légère couche de baume de Canada et on laisse sécher. Une lamelle, qui s'applique sur le bord supérieur enduit de vaseline au sublimé, obture complètement la chambre. En mettant une goutte d'eau pure au fond de la cavité sur le porte-objet et une goutte de bouillon ou de tout autre milieu nutritif (P) sur la face inférieure de la lamelle, on aura à sa disposition un milieu isolé de tout contact extérieur, pouvant suffire à approvisionner pendant un temps assez long les Bactéries qui s'y développent. De plus, l'observation, même au moyen d'objectifs forts, sera possible à tout instant, les cellules se répandant dans le liquide et atteignant vite la face inférieure de la lamelle.

La cellule est rapidement stérilisée dans la flamme ou dans l'alcool à 95° : à l'aide d'une pipette stérilisée, on dépose au fond une goutte d'eau pure. Le bord libre est enduit de vaseline au sublimé. On passe une lamelle dans la flamme, on y dépose une goutte de bouillon stérilisé et, à l'aide d'un fil de platine préalablement rougi puis refroidi, une très faible parcelle contenant l'espèce à étudier. La lamelle est appliquée sur l'anneau, la face qui porte la goutte tournée naturellement vers la cavité. La couche de vaseline la maintient fixée contre l'anneau de verre et s'oppose en outre à l'entrée de l'air, qui pourrait apporter des germes étrangers. Le développement se fait plus vite à la surface libre de la goutte; aussi, avec les objectifs à court foyer, doit on examiner surtout les bords de la goutte. Il est préférable d'étaler en premier la matière d'inoculation sur la lamelle et de la dessécher légèrement avant d'y déposer la goutte du liquide nutritif; de cette façon, beaucoup de Bactéries restent accolées à la face inférieure du couvre-objet et peuvent être facilement suivies avec les plus forts systèmes à immersion. Ces cellules sont mises en étuve ou laissées à la température ordinaire; il faut, en tout cas, les mettre à l'abri de l'évaporation en les couvrant d'une petite cloche où l'air est saturé de vapeur, ou mieux, en les disposant dans une petite chambre humide. On s'en construit facilement une avec une boîte en zinc, qui est munie de deux tringles pouvant supporter une rangée de ces cellules porte-objet et dans le fond de laquelle on met de l'eau.

On peut utiliser, pour les mêmes observations, les porte-objets excavés que l'on trouve dans le commerce. La lamelle, munie d'une gouttelette de liquide ensemencée, est retournée sur la cavité de façon que la goutte pende librement. On lute les bords du couvre-objet à l'aide d'une couche de paraffine.

La *chambre humide* de Ranvier (fig. 103) est d'un usage analogue. On met une très petite goutte d'eau stérilisée dans la rigole *d* et la goutte de liquide contenant des Bactéries sur le disque médian *s*, dont le niveau est légèrement inférieur à celui de la surface supérieure du porte-objet. On couvre d'une lamelle stérilisée dont les bords sont lutés avec de la paraffine.

De ces trois appareils, le premier est certainement préférable à cause des dimensions de la cavité de culture qui permet d'user d'une quantité

plus considérable de matière nutritive et de laisser plus d'air à la disposition des cellules qui s'y développent. Les deux autres conviennent surtout pour des expériences de peu de durée.

L'observation des Bactéries vivantes par ces procédés donne de très intéressants détails sur leur mode de vie. On y suit sur une même cellule les modifications qu'elle peut subir, la multiplication végétative, la formation des spores, leur germination.

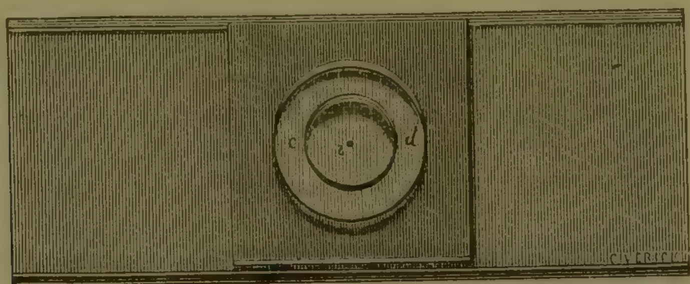


Fig. 103. — Chambre humide de Ranvier.



Fig. 104. — Chambre à gaz de Ranvier.

La *chambre à gaz* de Ranvier (fig. 104) permet d'observer sur porte-objet le développement de Bactéries dans différents gaz. Elle est d'un précieux secours pour l'étude des espèces anaérobies. Une goutte du liquide à examiner est déposée sur le disque de verre *a* et recouverte d'une lamelle qui est lutée à la paraffine sur le porte-objet métallique. Le liquide forme une couche mince entre la lamelle et le disque *a*, qui se trouve à un niveau un peu inférieur. Le courant gazeux passe par les tubulures latérales, dont est muni le porte-objet, et vient circuler dans la rigole *b*, qui entoure le disque *a*.

2. Cultures sur plaques.

Cette méthode, établie par Koch (1), est une des plus sûres et des plus fructueuses de la bactériologie. Le principe qui a guidé son auteur était de disséminer, dans de la gélatine liquéfiée à basse température, les Bactéries contenues dans une parcelle de la substance à examiner, de façon à leur permettre de se développer isolément, lorsque la gélatine

(1) Koch, Zur Untersuchung von pathogenen Organismen (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881), et surtout *passim* dans les *Actes de l'Office imp. de santé de Berlin*.

refroidie, ayant fait prise, les maintient à distance les unes des autres.

Deux résultats sont surtout à apprécier : l'*isolement* des colonies produites, qui peut être plus ou moins prononcé suivant la quantité de Bactéries que contient la matière d'inoculation, et suivant le degré de dilution qu'on lui a fait subir ; la *forme* de ces colonies qui, issues d'un seul germe, revêtent souvent un aspect véritablement typique. De là, des caractères très importants pouvant être appliqués d'abord à l'obtention de cultures pures et à la vérification des cultures, et en second lieu à la diagnose, encore si difficile, des espèces.

Aussi ne saurait-on trop recommander de se livrer à l'étude approfondie de cette méthode. Au début des études de bactériologie, elle fournira de nombreux sujets d'examen, surtout fructueux parce qu'ils seront purs; elle familiarisera avec la préparation de cultures *pures*, cette clef de la science des Bactéries ; elle sera, pour celui qui se livre à des recherches sérieuses et approfondies, un moyen précieux de contrôle et une source des plus fécondes pour l'observation.

Si l'on ne perd pas de vue le premier but de la méthode, *isolement* des germes suffisant pour empêcher la confusion des colonies qu'ils vont donner en se développant, l'application en sera facile; l'observateur pourra en varier à son gré les détails, pourvu que le résultat soit obtenu. Il faut amener les Bactéries contenues dans la substance à examiner, à être *diluées* dans une quantité de liquide gélatineux telle, que lorsqu'il aura fait prise par refroidissement, elles restent suffisamment écartées les unes des autres pour que les colonies qui doivent en provenir soient faciles à distinguer et empiètent le moins possible sur des voisines. C'est une simple affaire d'appréciation et de tâtonnement. Si l'on ne réussit pas une première fois, on en est quitte pour recommencer en mettant à profit les données de la première observation.

Prenons, comme exemple de la technique générale du procédé, l'examen bactériologique d'une eau de boisson, cas des plus instructifs par le grand nombre des espèces que l'on peut rencontrer et la variété surprenante des colonies qu'elles donnent en cultures sur plaques, et d'une haute importance pratique au point de vue de la recherche de certaines espèces nuisibles qui peuvent contaminer ce liquide.

Le chiffre des Bactéries que peut contenir une eau varie dans des limites très étendues, en relation directe avec les causes de contamination qui peuvent agir sur elle. Nous passerons toutes ces causes en revue dans la troisième partie de ce livre. Nous supposerons donc avoir affaire à un liquide d'une teneur moyenne en germes, comme le sont la plupart des eaux potables des grandes villes; il sera facile ensuite de discuter la marche à suivre dans des conditions différentes.

Le milieu qui va servir est la gélatine nutritive dont la préparation a été indiquée page 183. La consistance de la gelée, et par conséquent la quantité de gélatine sèche à employer, doit légèrement varier suivant la température du milieu où on opère. Il sera presque toujours plus commode de prendre 7 à 8 p. 100 de gélatine ; dans les fortes chaleurs de l'été, il faudra augmenter ce poids et arriver à 10 et 15 p. 100 et même plus, si l'on ne dispose pas de moyens de maintenir la température à un degré assez bas pour que la gelée fasse rapidement prise et se maintienne coagulée. Il faut éviter d'ajouter à la gélatine qui doit servir aux cultures sur plaques du sel ou du sucre, si favorables cependant au

développement des Bactéries ; par suite de la dessiccation de la couche de gelée, il se formerait des amas de petits cristaux très gênants pour l'observation.

Quelques tubes de gélatine bien transparente, stérilisés en toute assurance, sont mis dans un vase contenant de l'eau à une température de 40° environ. La gelée fond rapidement. Par addition d'un peu d'eau froide, on fait tomber la température vers 30 degrés. On s'assure que les bouchons d'ouate des tubes n'adhèrent pas à la paroi ; dans le cas contraire, on les détache en les tordant plusieurs fois sur eux-mêmes, sans arriver à déboucher complètement le tube. On prend, à l'aide d'une mince pipette stérilisée, une petite quantité de l'eau à analyser, qui doit être recueillie avec toutes les précautions convenables d'après des méthodes expliquées plus loin, et qui sera agitée au préalable, afin de répartir au mieux dans la masse les germes qu'elle contient. On débouche un tube et on laisse rapidement tomber une ou plusieurs gouttes de la pipette ; on replace, tout de suite, la bourre d'ouate. Le tube est doucement secoué et roulé entre les doigts pour bien mêler l'eau et la gélatine, sans provoquer la formation des bulles d'air dans la masse, en ayant soin de ne pas projeter du contenu sur la bourre. On le marque d'un numéro 1, c'est la *dilution originale*. Une *seconde dilution* est obtenue en mélangeant une ou plusieurs gouttes de cette première à la gélatine d'un second tube ; elle est désignée par le numéro 2. Une même quantité de la seconde dilution ajoutée au contenu d'un troisième tube donne une *troisième dilution*, notée avec le chiffre 3. En procédant de la même façon, on peut obtenir des dilutions plus étendues, précieuses lorsque la teneur en Bactéries est élevée.

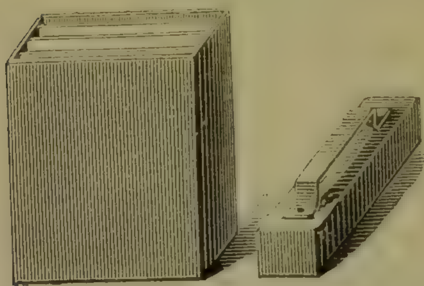


Fig. 105. — Boîte à stériliser les plaques.

Les tubes ainsi préparés sont laissés quelques minutes dans de l'eau à une température de 25° environ ; quand ils sont descendus à ce degré, ils peuvent être coulés sur les plaques de verre.

On se sert de plaques de verre de 10 à 12 centimètres de large sur 14 ou 15 de longueur. Il est préférable de leur faire donner une largeur égale au double de la distance qui existe entre le centre de la platine et la base de la colonne qui supporte le tube du microscope dont on fait usage. De cette façon, il sera possible d'explorer au microscope toutes les parties de la plaque, ce qui ne se pourrait guère si elle était plus large : toute une bande médiane serait alors inaccessible. Ces plaques, bien propres, doivent être chauffées d'avance de manière à être stérilisées et à ne pas apporter des germes qui fausseraient l'opération. On les stérilise commodément en en mettant un certain nombre dans une boîte en tôle spéciale (fig. 105), munie d'un couvercle, qu'on laisse pendant une heure et demie ou deux heures à 150° environ dans l'étuve à air chaud. Les boîtes qui s'ouvrent par un volet sont d'une commodité beaucoup plus grande que celles à couvercle. On en retire les plaques une à une, au fur et à mesure du besoin, à l'aide de pinces flambées et en ouvrant la boîte en la maintenant à plat, dans la position horizontale.

Les plaques peuvent être simplement stérilisées à la flamme du gaz ou d'une lampe à alcool. On les met à refroidir, la face qui doit être utilisée tournée vers le haut, couvertes par une feuille de papier blanc très propre. On peut aussi les envelopper séparément de papier blanc et les stériliser après. Elles ne sont alors déballées qu'au moment du besoin.

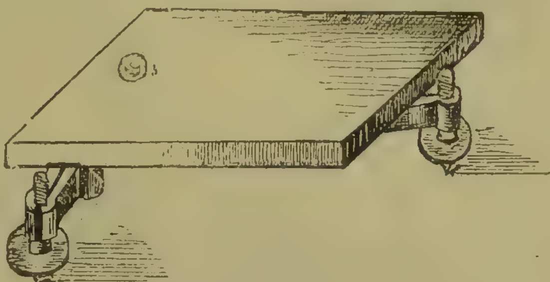


Fig. 106. — Planchette à vis calantes.

Pour empêcher la gélatine de se répandre irrégulièrement sur la plaque et de couler même de ses bords, il faut de toute nécessité disposer d'un support *parfaitement* horizontal. Cette condition s'obtient facilement à l'aide d'une planchette munie de trois vis calantes (fig. 106), que l'on peut disposer à volonté en s'aidant d'un petit niveau à bulle d'air. Les dimensions, de 20 centimètres de longueur sur 30 de largeur, sont très convenables ; elles permettent de placer sur la planchette à niveau les trois plaques qui servent le plus souvent pour une même opération ; ce qui n'offre aucun inconvénient si l'on va vite.

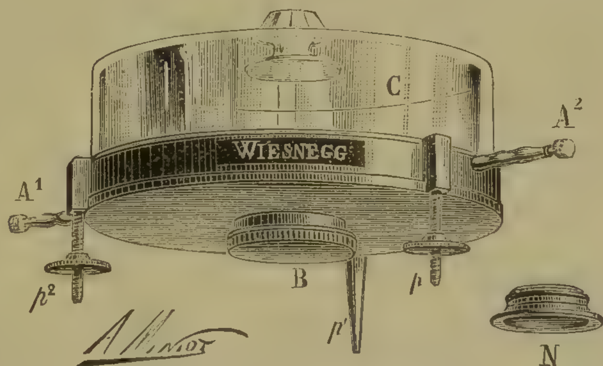


Fig. 107. — Appareil pour plaques de gélatine.

Lorsque la température est peu élevée, pour amener ou hâter la prise de la gélatine, au lieu de placer la plaque ou les plaques directement sur la planchette, on interpose un réfrigérant. C'est un cristallisoir rempli d'eau glacée et couvert d'une large lame de verre qui sert de support aux plaques. Cette lame est placée parfaitement plane à l'aide d'un niveau à bulle.

La figure 107 représente un appareil imaginé par Roux pour obvier à cet inconvénient. Il se compose d'une boîte circulaire en cuivre que l'on dispose horizontalement au moyen d'un niveau N et de vis calantes. A^1 et A^2 sont deux tubulures soudées à cette boîte, par où peut passer un courant d'eau froide ou, au besoin, un courant d'eau chaude. Par une large ouverture B, placée sous la boîte et fermée par un bouchon à vis, on peut introduire des morceaux de glace, lorsque cela est nécessaire. Une large cloche recouvre l'appareil.

La table refroidissante d'Ogier (fig. 108), de plus grandes dimensions, peut recevoir un plus grand nombre de plaques et est alors d'un usage plus courant.

On prend un tube, où la gélatine encore visqueuse est près de son point de coagulation et, après l'avoir essuyé, pour ne pas laisser couler d'eau du bain dans le mélange, on en verse le contenu sur la plaque froide. La gelée s'étale en une tache plus ou moins large suivant qu'elle se prend plus ou moins vite. Il faut éviter de verser trop tôt la gélatine

qui s'étend trop et atteint les bords de la plaque; lorsqu'elle a commencé à se solidifier dans le tube, il se forme par places de gros amas très défavorables à l'observation. L'habitude fera bien vite saisir le moment opportun. Il est du reste facile de remédier à l'un ou l'autre défaut en refroidissant ou réchauffant les tubes. On couvre les plaques, isolément ou toutes ensemble, avec une cloche ou un cristallisoir jusqu'à solidification complète de la masse de culture.

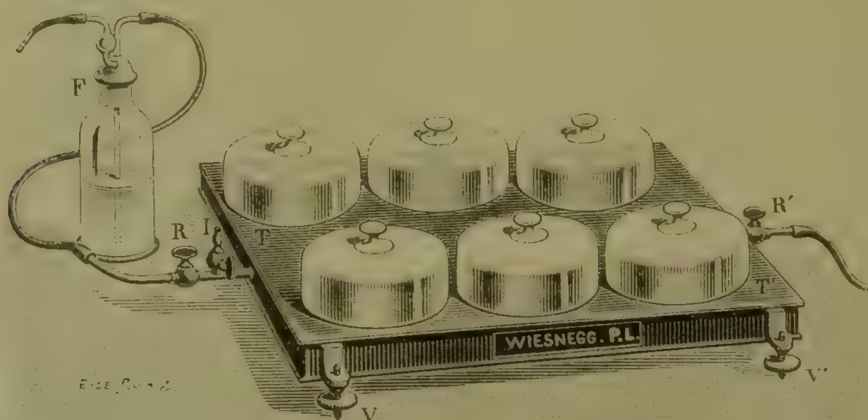


Fig. 108. — Table refroidissante d'Ogier pour cultures sur plantes.

Chaque plaque doit être munie d'une étiquette portant les indications nécessaires, indication de l'objet de la culture et numéro d'ordre de dilution. Les plaques sont alors disposées soit isolément au fond d'un cristallisoir couvert, stérilisé, où l'humidité est entretenue par un tampon de coton imbibé d'eau bouillie, soit plusieurs ensemble au moyen de combinaisons variées. De petites étagères en cuivre, du modèle de celle représentée figure 109, ou faites en fil suffisamment résistant pouvant supporter trois ou quatre plaques, ou même un plus grand nombre, conviennent parfaitement pour cet usage. Elles se placent dans un cristallisoir fermé qui fait chambre humide ou sous une cloche lorsque l'étagère est haute.



Fig. 109. — Étagère pour plaques.

Il est nécessaire de stériliser avec soin les instruments qui doivent supporter ou contenir les cultures sur plaques. On ne saurait trop insister sur ce point. C'est de là que viennent, en effet, une grande partie des contaminations de ces cultures. Les objets en verre peuvent être stérilisés par la chaleur ou par un lavage à une solution de sublimé; ceux en métal doivent être flambés. Il est très commode de se servir d'une boîte en feuille de cuivre, à porte vitrée, contenant une étagère en fil de cuivre assez rigide, à un nombre de places variable suivant la quantité de plaques qu'on veut y renfermer. Les parois internes de la boîte et l'étagère sont, chaque fois, soigneusement flambées avec un bec de gaz que l'on promène sur elles. Ou bien on peut stériliser le

tout en bloc dans le stérilisateur à l'air chaud, lorsqu'il est de dimensions suffisantes.

Les cultures sur plaques se font à la température ordinaire, ou dans une étuve réglée de 18° à 19°, lorsque les variations diurnes et nocturnes sont trop considérables. Dans les fortes chaleurs de l'été, on est même obligé d'abaisser la température de l'appareil qui les contient, si l'on veut que la gélatine reste solide. En hiver, pour obtenir 18° environ, il suffit de placer l'étuve à cultures ou plaques tout contre une étuve réglée à 35° environ.

On opère de même pour toute substance contenant des Bactéries, que l'on veut étudier. Pour les matières solides ou visqueuses, terre, poussières, parcelles de culture, pus, sang, etc., il vaut mieux les délayer dans une petite quantité d'eau ou de bouillon stérilisés, avant de les ajouter à la gélatine; on sépare mieux les germes contenus dans le milieu à examiner, et ils se mélangent plus uniformément à la masse de culture.

Pour certaines cultures, il peut être préférable de se servir d'un milieu liquide pour opérer la dilution. Qu'il s'agisse d'un liquide ou d'une matière délayée dans un liquide, on prend une goutte ou 1 centimètre cube, qu'on ajoute à 10, 100... centimètres cubes d'eau ou de bouillon stérilisés; on mélange intimement et on prend, suivant les cas, une goutte de 1 centimètre cube de cette dilution, pour mêler à la gélatine et faire une culture sur plaques. C'est surtout lorsqu'on a affaire à une substance ne contenant qu'une ou quelques espèces qu'il est avantageux d'opérer ainsi. Lorsqu'au contraire il se trouve de nombreuses espèces mélangées, il est beaucoup plus rationnel de recourir aux dilutions successives, qui se servent, pour ainsi dire, de contrôle et de complément l'une à l'autre.

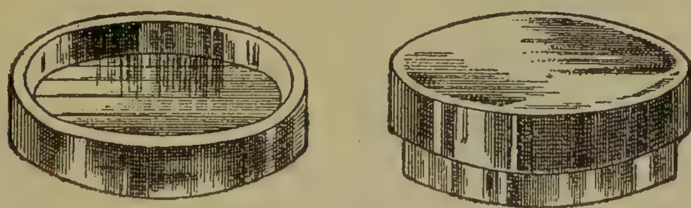


Fig. 110. — Boîtes de Petri.

L'emploi de récipients creux, aux lieu et place de plaques planes, offre souvent de grands avantages. Des cristallisoirs bas en verre de Bohême, que l'on ferme avec un disque de verre ou avec un couvercle spécial, peuvent être d'un bon usage; j'en ai conseillé l'usage dès 1887, ils sont aujourd'hui très employés sous le nom de *boîtes de Petri* (fig. 110). Certains modèles ont même une tubulure latérale, bouchée par un tampon de coton, qui permet d'introduire la substance à étudier sans exposer le milieu de culture à être contaminé par la chute des poussières de l'air. On remplit le même but en faisant, à l'aide d'un lut ou de petites baguettes de verre collées au baume, un rebord aux plaques ordinaires; mais la stérilisation est alors plus difficile, pour éviter de fondre la substance employée. On s'est aussi servi des vases à fond plat dits *flacons d'Erlenmeyer*, qui offrent en outre l'avantage de supprimer l'accès de l'air chargé d'impuretés. Les fioles plates des modèles repré-

sentés figures 111 et 112 sont d'un emploi plus commode, surtout parce qu'il est possible de les placer sous le microscope pour étudier les colonies à de faibles grossissements. Il est facile aussi avec elles d'éviter toute contamination par l'air. Mais, avec tous ces modèles, il est très difficile et souvent impossible de pouvoir étudier de près et directement les différentes colonies qui se développent dans la gélatine; il est surtout trop chanceux de pouvoir se procurer en toute assurance des parcelles de colonies sans léser les voisines.



Fig. 111. — Fiole plate de Kolle.

Esmarch (1) a modifié le procédé primitif de Koch de la façon suivante. Il opère les dilutions dans des tubes un peu plus gros que les tubes à essai ordinaires et, au lieu d'en verser le contenu au dehors sur les plaques, il le solidifie dans l'intérieur même du tube, en provoquant la coagulation en couche uniforme le long des parois. Il l'obtient facilement en maintenant le tube horizontalement sous un robinet d'eau froide et en lui imprimant un mouvement assez rapide de rotation entre les doigts. Des appareils assez compliqués ont été imaginés pour remplir cet office. On évite ainsi les contaminations diverses qui peuvent survenir dans le cours des opérations de la méthode des plaques; il y a certitude absolue que les colonies développées dans ce manchon de gélatine proviennent bien toutes de la matière d'ensemencement. Mais il est plus difficile d'examiner fructueusement les colonies et, de plus, lorsqu'il se trouve dans le mélange des espèces liquéfiant la gélatine, le liquide produit coule plus vite et vient troubler l'expérience.



Fig. 112. — Fiole plate de Soyka.

En somme, la méthode de Koch, bien qu'elle exige une certaine habitude, des manipulations minutieuses et un outillage assez perfectionné, est encore, en prenant toutes les précautions nécessaires, et en usant de boîtes de Petri, celle qui est à recommander, qui donne les résultats les plus complets et qui, pratiquement, est la plus simple et la plus facile à appliquer.

Les germes, dont on observe le développement dans les cultures sur plaques, peuvent ne pas provenir tous de la substance à examiner.

Un certain nombre d'entre eux ont été déposés par l'air, durant le cours de manipulations. Lorsqu'on prend soin de recouvrir chaque plaque d'une cloche pendant le refroidissement

(1) Esmarch, Ueber eine Modification des Koch'sen Plattenverfahren (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 2e p., p. 233, 1886).

de la gélatine, et qu'on opère dans un milieu où l'air n'est pas agité, l'apport de germes par l'atmosphère peut être considéré comme rare ou au moins peu important. C'est ce qui résulte de nombreuses expériences, de celles de Miquel en particulier (1). Il en est de même pendant les premiers jours des cultures, où elles ne servent encore que très peu ou pas du tout et restent enfermées dans la chambre humide, si celle-ci a été soigneusement stérilisée. Mais dès qu'on les manie souvent pour les examiner, la contamination se fait et parfois même dans une large proportion. Il est toutefois facile de distinguer les colonies de ces germes de l'air qui ne se trouvent qu'à la surface de la gélatine, tandis que les autres se trouvent aussi dans les parties profondes ; de plus, avec un peu d'expérience, on apprend vite à connaître l'aspect des colonies des premiers. Il est du reste aisé de se rendre compte de la moyenne des contaminations, en exposant des plaques témoins à côté des véritables plaques de culture ; on reconnaît alors que la contamination est loin de se faire dans d'aussi larges limites que le prétendent beaucoup d'observateurs, mais au contraire que c'est, la plupart du temps, lorsque toutes précautions sont prises, un facteur presque négligeable. On évite en majeure partie les impuretés de l'air en faisant les cultures en vases clos, en cristallisoirs couverts, en flacons d'Erlenmeyer, en fioles plates ou en tubes d'après le procédé d'Esmarch, mais, dans ces derniers cas, on perd ainsi bien des avantages de la méthode.

L'apparition des colonies se fait plus ou moins tôt dans ces cultures, suivant les conditions de température et les espèces auxquelles on a affaire. D'habitude, on les remarque comme un piqueté blanc, surtout si la plaque se détache sur un fond noir, au bout de dix-huit à trente-six heures. A un faible grossissement, 25 à 55 diamètres, elles se distinguent comme autant de petites taches sphériques ou discoïdes blanches, grises, jaunâtres, opaques ou plus ou moins transparentes. Ce n'est souvent qu'après quelques jours qu'elles prennent un aspect véritablement caractéristique. Beaucoup ont alors gagné la surface de gélatine, où elles se sont épanouies. C'est du deuxième au cinquième jour que l'étude des plaques est particulièrement instructive. Si nous examinons, après une telle durée, une culture d'eau préparée comme il a été dit précédemment, nous y trouvons tout un ensemble de colonies dont la diversité d'aspect nous surprendra souvent (fig. 113). Les unes ne modifient pas l'aspect ni la constitution de la gelée nutritive ; ce sont de petits disques plus ou moins étalés sur la surface libre, des portions de sphère souvent irrégulières qui proéminent, de petites masses mamelonnées ou lobées envoyant parfois des expansions latérales longues et nombreuses. Les autres liquéfient tout autour d'elles la gélatine au fur et à mesure qu'elles s'étendent (fig. 113, *a*) ; cette liquéfaction peut se faire d'une façon régulière sur toute la périphérie de la colonie, ou bien ne s'opérer principalement ou exclusivement que dans certaines directions. De la portion centrale de la Zooglée, partent dans ce cas des rayons droits ou tortueux qui s'enfoncent dans la masse et dirigent les tractus de liquéfication. De cette excessive variété des formes on tirera des caractères de premier ordre pour la diagnose des espèces auxquelles appartiennent les colonies obtenues. Souvent des espèces de l'air viennent

(1) MIQUEL, Les organismes vivants de l'atmosphère, Paris, 1882, et *Annuaire de Montsouris*, 1880-1891.

émailler les plaques de leurs couleurs vives, rouge, rose, jaune, blanc éclatant. Enfin, dans les cultures âgées surtout, apparaissent de nombreuses Moisissures à tendance envahissante. Ce sont les flocons blancs du *Penicillium candidum*, les disques verts à cercles concentriques des *Penicillium glaucum* et *Aspergillus glaucus*, les dômes d'un noir vert de l'*Aspergillus niger*, le duvet blanc de plusieurs *Mucor*. Tous sont des

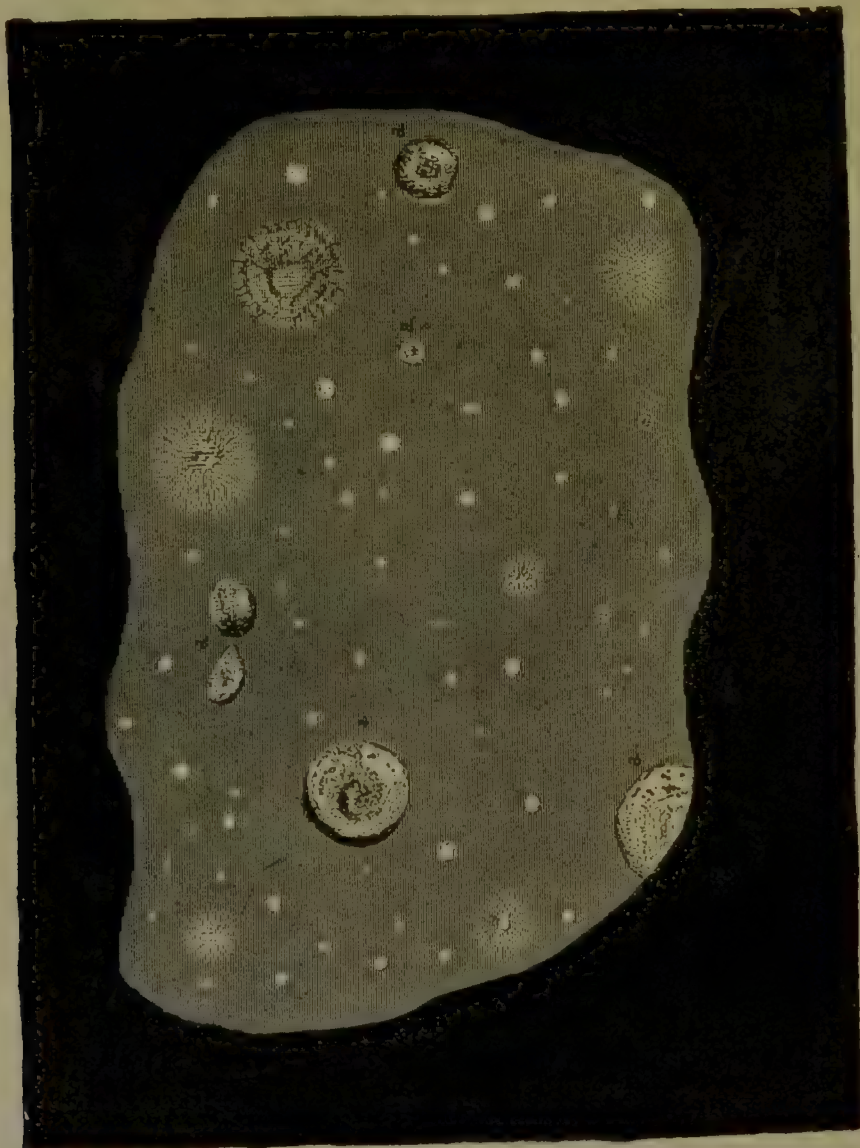


Fig. 113. — Aspect d'une culture sur plaques (Grandeur naturelle).

ennemis à craindre pour les cultures ; ils arrêtent le développement des colonies en les étouffant dans un lacis serré de tubes mycéliens ou en liquéfiant rapidement la gélatine ; aussi ne saurait-on trop se précautionner contre eux. On s'en défend par une stérilisation soignée des chambres humides où se placent les plaques et par la destruction à la chaleur de ces amas de Moisissures dont on doit empêcher le plus possible la dissémination des spores dans le local d'observation.

L'examen de ces colonies à un grossissement de 15-50 diamètres donnera de précieux renseignements sur leur aspect général, et, s'il y a

lieu, sur les rapports de leurs différentes parties. Les objectifs 0 de Vérick et les différents systèmes *a* de Zeiss, et aussi les objectifs 0* et *a** à grossissement variable de ces mêmes constructeurs (Voy. p. 138) sont d'un très bon usage pour ces observations. Des combinaisons plus fortes, 2 de Vérick ou BB de Zeiss, révéleront souvent ou feront mieux voir certains détails de structure. Enfin, dans des cas spéciaux, il pourra être utile d'employer des objectifs de force moyenne, 4 de Vérick ou DD de Zeiss, lorsque la transparence des parties à examiner le permettra. L'emploi d'objectifs plus forts n'est pas possible à cause de leur trop court foyer et du peu de lumière dont on dispose généralement dans ces observations.

Le dessin de ces figures si variées est un excellent moyen de se les rappeler. C'est ici surtout que la photomicrographie rend d'importants services pour rendre bien des détails que les dessins les plus soignés ne peuvent exactement représenter.

L'étude complète exige l'examen des éléments constituants à de forts grossissements. Une parcelle de la colonie dont on s'occupe est enlevée avec un fil de platine préalablement rougi dans la flamme et refroidi, puis dissociée sur un porte-objet dans une goutte d'eau pure ou de la solution d'acétate de potasse. La préparation est recouverte d'une lamelle et examinée aux combinaisons optiques voulues, à l'aide d'un fort objectif à sec d'abord et d'un objectif à immersion ensuite. La prise de substance avec l'aiguille de platine doit être faite de façon à ne toucher qu'à la seule colonie que l'on vise. Il est souvent avantageux, parfois nécessaire, de s'aider d'un faible grossissement fourni par une loupe à dissection ou le microscope muni d'objectifs et d'oculaires faibles. Le renversement des images gêne au début, mais, avec un peu d'attention et d'habitude, il devient facile d'opérer dans ces conditions. Il va sans dire qu'on pourra faire usage des méthodes d'observation ordinaires, en particulier des procédés divers de coloration, pour arriver à un résultat le plus satisfaisant possible.

Avec des colonies obtenues sur plaques, bien isolées les unes des autres, il est très simple d'obtenir des cultures pures des espèces ensemencées. On procède à l'ensemencement sur gélatine ou sur gélose, en suivant les précautions énoncées précédemment au sujet des cultures en tubes. Il faut choisir, si faire se peut, une colonie bien isolée, dans laquelle un examen attentif au microscope ne décèle aucun mélange. On plonge dans la colonie l'extrémité de l'aiguille de platine préalablement stérilisée au feu. L'opération se fait, comme la précédente, à l'œil nu ou à un faible grossissement. L'opérateur tient de la main gauche un tube de culture dont il a libéré le bouchon d'ouate en le tordant sur lui-même de façon à pouvoir l'ôter sans encombre. En tenant le tube incliné, l'orifice tourné vers le bas ou au moins le plus horizontalement possible, il enlève la bourre de la main droite munie de l'aiguille de platine chargée de la matière prise à la colonie, puis plonge l'aiguille dans le tube et ensemence le milieu par une piqûre ou une strie. Pour les milieux liquides, on procède de même en agitant l'aiguille chargée de gélatine dans le liquide de manière à y laisser des germes qu'elle porte. Il est bon, après coup, de vérifier au microscope l'état de la colonie touchée, pour s'assurer de la parfaite réussite de la manœuvre.

Quelle peut être la valeur de la forme des colonies en culture sur

plaques? Si l'on était en droit d'admettre, toutes conditions égales d'ailleurs, la constance absolue de la forme pour une même espèce, on posséderait là un caractère d'une valeur exceptionnelle pour la détermination des espèces. Or, cette condition semble n'être pas toujours satisfaisante et souvent elle prête à d'assez larges variations. C'est ainsi qu'un *Bacille*, qui m'a paru bien voisin de l'espèce à laquelle Hauser a attribué le nom de *Proteus vulgaris*, ne m'a plus donné, après quatre ou cinq générations et un temps de culture assez long, les cultures sur plaques si caractéristiques, dont le centre émet en tous les sens de longs boudins tortueux, entremêlés les uns aux autres, mais bien de simples colonies à disposition radiée, n'émettant aucun de ces prolongements curieux. Certaines espèces possèdent la curieuse particularité de ne donner des colonies caractéristiques en cultures sur plaques que lorsqu'elles sortent d'un milieu naturel ; provenant d'autres cultures, par exemple, la forme change et est parfois bien différente de la première. D'autres, au contraire, non seulement possèdent une forme en culture sur plaques absolument fixe et constante, mais reproduisent même cette forme identique lorsqu'on vient à les inoculer en piqûre sur un milieu à la gélatine. Il est possible que la forme de la culture sur plaques varie avec le temps, dans de certaines limites, en même temps que change, nous l'avons vu, la vitalité de l'espèce et ses différentes manifestations physiologiques. Jusqu'ici cependant il paraît certain qu'en première culture, on peut se baser en toute assurance sur la forme de la colonie en culture sur plaques. En tenant compte de ce que nous savons des caractères des spores, il est probable aussi que la forme de la colonie est sensiblement constante quand elle provient d'une spore. La description exacte de la forme des colonies sur plaques des différentes espèces sera certainement d'une utilité très grande pour la diagnose des espèces, surtout pour celles que les dimensions ou les caractères ordinaires des cultures ne permettent pas de distinguer aisément.

En été, pendant les fortes chaleurs, il est difficile, lorsqu'on ne possède pas de local suffisamment frais, d'obtenir, aussi facilement que d'ordinaire, des cultures sur plaques de gélatine, même en usant de gelée renfermant 12 p. 100 et plus de gélatine. Il faut user d'artifices pour maintenir les plaques à une température qui ne dépasse pas 20 degrés. Deux moyens commodes peuvent être conseillés. On peut placer les plaques dans une boîte métallique recouverte en partie de feutre que l'on maintient mouillé en faisant baigner les bords dans l'eau ; l'évaporation abaisse souvent la température d'une manière suffisante. Ou bien, on peut les placer dans une petite étuve carrée ou quadrangulaire, à double paroi, en tôle de cuivre, dans laquelle on fait passer nuit et jour un courant d'eau fraîche. En usant de l'un ou de l'autre de ces procédés, on obtient aisément une température qui ne dépasse pas 18 degrés.

Les cultures sur plaques avec les milieux à la gélatine ne doivent pas être exposées à une température supérieure à 20-22°, sous peine de voir la masse fondre et perdre dès lors les précieux caractères qu'elle offrait. A peine peut-on songer, en mettant jusqu'à 15 p. 100 de gélatine, à atteindre 23-24°. Aussi a-t-on cherché à mettre en pratique cette méthode avec des milieux moins fusibles, permettant d'employer une température supérieure, 35-37°, et d'étudier ainsi des espèces qui ne

croissent qu'à cette température. Le seul milieu que l'on puisse songer à utiliser est la gélose. Malheureusement, le produit n'est bien fluide qu'à une température de 40° au moins, bien élevée pour beaucoup de Bactéries. L'opération se conduit comme pour la préparation des plaques à la gélatine. La couche de gélose glissant facilement sur le verre, Esmarch (1) conseille d'ajouter quelques gouttes d'une solution de gomme arabique qui détermine l'adhérence. Les caractères des colonies développées sur plaques de gélose sont bien moins distinctifs

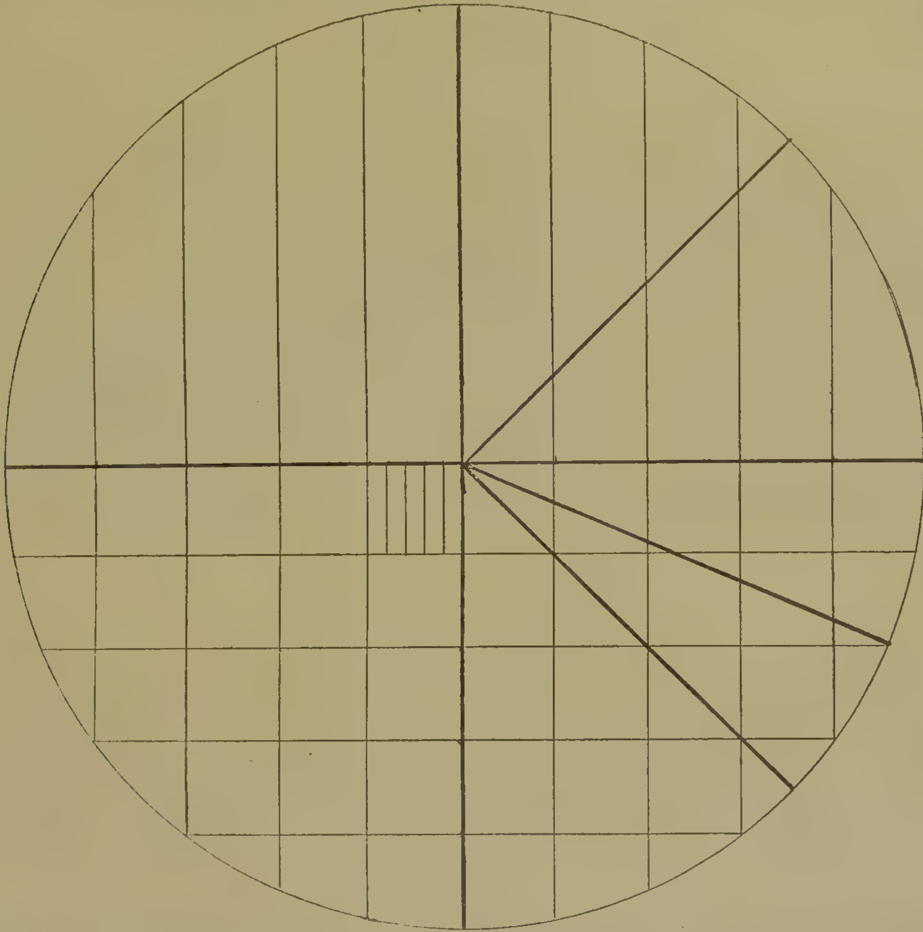


Fig. 114. — Dessin pouvant servir à la numération des colonies sur plaques.

qu'avec la gélatine ; il manque surtout l'indice souvent précieux de la liquéfaction.

Unna (2) obtient des plaques au sérum en ajoutant au sérum préparé suivant son procédé (Voy. p. 203) 10 p. 100 de gélatine ou 6 p. 100 d'agar et en stérilisant à une température inférieure au point de coagulation.

La forme des colonies obtenues dans ces milieux diffère beaucoup de celles que les mêmes espèces donnent dans la gélatine, autant qu'on en peut juger maintenant.

(1) Esmarch, Ueber eine Modification des Koch'sen Plattenverfahren (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 2e p., p. 293, 1886).

(2) Unna, Ueber eine neue Art erstarten Blutserums und über Blutserumplatten (*Monatschr. für prakt. Dermat.*, V, 1886, n° 9).

Le nombre des colonies développées dans une culture sur plaque est souvent considérable ; il est alors impossible d'en faire une numération absolument exacte, d'autant plus qu'il faut, la plupart du temps, opérer avec une loupe ou sous le microscope. On se sert alors d'une plaque de verre divisée, à l'aide de traits au diamant, en petits carrés de 1 centimètre de côté et qu'on superpose à la culture en évitant tout contact. On compte le nombre de colonies que renferment deux ou trois de ces carrés, on établit une moyenne à l'aide de laquelle le nombre total s'obtient avec une approximation suffisante. La plaque de verre divisée peut être remplacée par une feuille de papier blanc semblablement partagée, qui se place sous la culture et se voit par transparence ; un fond noir avec des traits blancs donne encore de meilleurs résultats ; une simple ardoise sur laquelle on a tracé un quadrillage en centimètres carrés est l'appareil le plus commode et le plus facile à établir.

L'emploi d'une figure comme celle représentée figure 114 permet de faire facilement des numérations en différents sens. Son diamètre, de 10 centimètres, est celui des boîtes de Petri d'un usage courant. Il est facile avec la formule πR^2 d'avoir la surface totale de la culture. La numération peut se faire par quart de cercle, par centimètre carré en établissant une moyenne et se servant du centimètre carré médian divisé en cinq parties, lorsque les colonies sont nombreuses et assez difficiles à compter, par huitième ou par seizième de cercle, lorsque la répartition des colonies serait inégale dans une direction rayonnante, ce qui arrive quand le milieu de culture n'a pas partout une même épaisseur.

3. Culture des anaérobies.

Les espèces anaérobies ne pouvant se développer en présence d'oxygène libre, il faut, pour les étudier, modifier les procédés ordinaires.

Le but cherché est la disparition de l'oxygène. Suivant le cas, cette absence d'oxygène doit être totale : il est des espèces qui l'exigent ; elle peut n'être que partielle : beaucoup d'anaérobies supportent la présence de petites quantités de ce gaz.

On peut réussir en mettant en œuvre différents moyens. L'emploi du vide donne d'excellents résultats. Il en est de même des cultures faites dans une atmosphère de gaz inerte. Il est également possible, après avoir chassé tout gaz du milieu, d'empêcher plus ou moins tout nouveau contact avec l'air. Enfin, l'oxygène présent peut être éliminé en provoquant son absorption par des produits qui en sont avides ou par des microbes aérobies. Les différentes méthodes employées sont toutes basées sur ces principes.

Pasteur (1), dans ses recherches sur la *vie sans air*, ensemençait les espèces qu'il étudiait, et tout particulièrement le *Bacillus butyricus*, dans des liquides privés d'air en y faisant barboter, pendant un temps assez prolongé, un courant d'hydrogène et d'acide carbonique. C'est encore un des moyens les plus simples auxquels on puisse avoir recours, en variant le dispositif de l'appareil suivant les besoins. Le vase, ballon ou tube de verre contenant le bouillon de culture ou la gelée maintenue

(1) PASTEUR, Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LII, 1861, p. 344), et Études sur la bière. Paris, 1876, p. 282.

liquide au bain-marie, est muni d'un bouchon de caoutchouc traversé par deux tubes de verre munis de robinets. Le tube d'arrivée du gaz plonge jusqu'au fond du milieu nutritif, l'autre dépasse à peine le bouchon. Le gaz inerte barbote dans le liquide et lui enlève peu à peu l'oxygène qu'il contient en s'y substituant : il arrive même à constituer en entier l'atmosphère de l'appareil.

On ferme les deux robinets, ou on met l'extrémité du tube de dégagement sous le mercure d'une cuve, ce qui permet de recueillir facilement les produits gazeux qui peuvent se dégager. Lorsqu'on possède une trompe à mercure ou à eau, ou tout autre appareil à faire le vide, il est bien plus facile d'enlever toute trace d'air en faisant le vide plusieurs fois de suite dans l'appareil et y laissant rentrer chaque fois du gaz inerte. Les gaz employés peuvent être l'azote, l'hydrogène ou l'acide carbonique. Ce dernier est plutôt à rejeter, car il exerce une action toxique sur plusieurs Bactéries. C'est l'hydrogène qu'il est le plus facile de se procurer, surtout à l'aide d'un appareil à production continue, très simple à monter et d'un usage courant dans tous les laboratoires de chimie ; il doit être pur, être dépourvu surtout d'hydrogène sulfuré et d'oxygène: on le dépouille du premier gaz en le faisant barboter dans une solution d'acétate de plomb et du second en le faisant traverser un flacon contenant une solution alcaline d'acide pyrogallique. Ferran (1) conseille l'acétylène, si facile à obtenir à l'aide du carbure de calcium et de l'eau. D'après Kladakis (2), le gaz d'éclairage n'est pas à employer; il est nuisible à beaucoup de Bactéries; il réussit cependant dans bien des cas et évite alors une préparation spéciale. Lorsque les gaz provenant du développement des Bactéries anaérobies doivent être analysés, l'emploi de l'hydrogène ou de l'acide carbonique doit être évité ; ces deux gaz se retrouvent en effet toujours dans les produits des fermentations occasionnées par ces êtres; il deviendrait délicat ou impossible de séparer le gaz dégagé du premier. On peut alors se servir d'azote ou, mieux, faire simplement la culture dans le vide obtenu avec la trompe.

Il est très difficile de purger complètement d'oxygène un milieu de culture, surtout s'il est visqueux comme les gelées fondues. Heureusement, beaucoup d'anaérobies supportent très bien la présence de petites quantités d'oxygène ; aussi leurs cultures s'obtiennent aisément. D'autres, au contraire, ne peuvent se développer qu'en l'absence absolue de ce gaz ; ceux-là exigent une attention spéciale pour l'enlever totalement du milieu.

Il peut parfois suffire, comme l'indiquent Cornil et Babès (3), de recouvrir la gélatine ensemencée d'une mince lamelle de verre assez large, sous laquelle le développement sera suivi au microscope. La lamelle doit être appliquée sur la gélatine encore visqueuse, de manière à y adhérer dans toute son étendue. Les résultats obtenus ne sont pas d'ordinaire satisfaisants.

Une simple couche d'huile de vaseline versée à la surface d'un tube ensemencé de gélatine ou de gélose préserve, souvent assez, de l'accès

(1) Ferran, Ueber die Verwendung des Acetylens bei der Kultur anaërober Bakterien (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 29).

(2) Kladakis, Ueber die Einwirkung des Leuchtgases auf die Lebenthätigkeit der Mikroorganismen. Berlin, 1890.

(3) Cornil et Babès, Les Bactéries, 3e édit., t. I, 1890, p. 128.

de l'air pour que la culture puisse se faire. Dans ce cas, comme dans le précédent du reste, la présence d'un peu d'oxygène ne peut jamais être écartée. Il est nécessaire d'employer de l'huile stérilisée au préalable pour éviter l'apport de Moisissures, toujours assez communes dans les huiles. La petite modification indiquée par Kasparek (1) peut rendre des services lorsqu'on veut opérer dans ces conditions.

En mélangeant de la matière d'ensemencement à de la gélatine ou de la gélose liquide, dans un tube à essai, les anaérobies se développent dans les couches profondes du milieu nutritif (fig. 115) et y forment des colonies plus ou moins espacées que l'on peut observer en fendant, à l'aide d'un trait de lime et d'un charbon rougi, le tube à l'endroit qu'elles occupent. En versant de l'huile à la surface de la gelée, la végétation est plus abondante. Elle est plus rapide encore, si l'on a pris la précaution de faire bouillir auparavant la gelée fondue pour expulser l'oxygène qu'elle peut retenir dissous ; il faut alors refroidir rapidement le tube au-dessous de 40° en le plongeant dans l'eau glacée, puis l'inoculer rapidement lorsque le contenu se prend en gelée. Le développement peut se reconnaître au bout de quelques heures, dans les conditions favorables. Les gaz dégagés sillonnent la masse, la découpent et en écartent violemment les morceaux. Il est toutefois des anaérobies qui ne végètent pas dans ces conditions, où la présence de traces d'oxygène n'est pas rigoureusement écartée. Vignal (2) a modifié ce procédé et l'a rendu plus pratique. La gélatine d'un tube à essai, bouillie et refroidie en présence d'hydrogène, est ensemencée vers 25°, puis agitée convenablement pour bien répartir les germes dans la masse. Par aspiration, on en remplit un tube de verre stérilisé au feu, de 3 à 4 millimètres de diamètre et long de 1 mètre environ, dont l'extrémité qui plonge dans le liquide a été étirée tandis que l'autre est bouchée par un tampon de coton. L'opération faite, les deux extrémités sont fondues à la flamme et fermées. Les anaérobies se développent dans la masse et forment des colonies qui sont isolées les unes des autres, si la dilution a été suffisante. On arrive facilement à ces colonies en coupant le tube de verre au niveau voulu ; les fragments du tube peuvent être conservés, en plongeant leur extrémité ouverte dans de la cire fondue. Il est toujours bon, avant de casser le tube à l'endroit voulu, d'ouvrir la pointe terminale, pour donner issue aux gaz qui pourraient projeter le contenu au dehors.



Fig. 115. — Culture de *Bacillus septicus*, dans un tube de gélatine.

On peut priver le milieu de son oxygène en y faisant barboter un courant assez rapide d'hydrogène. Pour la gélatine et la gélose, il faut nécessairement les maintenir fondues. On ensemence rapidement la culture à une température inférieure à 40° et on supprime le courant gazeux en laissant le tube ou le ballon rempli du gaz choisi. Ceci se fait

(1) Kasparek, Ein einfache Luftabschluss flüssiger Nährboden beim Kultivieren anaërober Bakterien (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 536).

(2) Vignal, Sur un moyen d'isolation et de culture des microbes anaérobies (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 358).

facilement en fondant, en des points étirés par avance, les tubes qui amènent et emmènent le courant gazeux; ces deux tubes, dont le premier plonge jusqu'au fond du vase et le second part de sa partie supérieure, sont maintenus dans un bon bouchon de caoutchouc qui obture parfaitement l'appareil.

On arrive très commodément à de bons résultats en ajoutant préalablement à ces gelées nutritives bouillies d'avance et maintenues fondues différentes substances facilement oxydables qui absorbent assez vite les traces d'oxygène que le milieu peut encore contenir. Kitasato et Weil (1) recommandent à ce point de vue le *formiate de soude* que l'on ajoute à la gélose ou à la gélatine en proportion de 0,3 à 0,5 p. 100, ou le *sulfo-indigotate de soude* en proportion de 0,1 p. 100. Liborius (2) conseille avec ce dernier corps d'ajouter 2 p. 100 de glucose, favorable au développement de beaucoup d'espèces et contribuant aussi à absorber de l'oxygène. Après ensemencement, il est bon de verser dans le tube un peu de vaseline liquide ou d'huile stérilisées; cette couche de 1 à 2 centimètres préserve les couches superficielles du milieu de la diffusion de l'oxygène de l'air. Il faut aussi chercher à ensemencer aussi profondément que possible, les couches inférieures étant toujours plus à l'abri de l'oxygène. Le développement microbien fait souvent pâlir la couleur bleue de la gelée au sulfo-indigotate, puis la décolore complètement, l'indigo bleu passant par réduction à l'état d'indigo blanc. Ces gelées ne doivent pas être préparées longtemps d'avance, la réduction se faisant lentement à la température ordinaire.

R. Würtz et Foureur (3) disent avoir obtenu de très bons résultats du gaz d'éclairage pour la culture de certaines espèces anaérobies types, entre autres le *Vibrion septique*, le *Bacille du charbon symptomatique* et le *Vibrion butyrique*. Leur procédé est très simple et mérite d'être décrit. Ils enlèvent d'abord l'oxygène que contient le milieu nutritif en faisant bouillir ce dernier, bouillon, gélatine ou gélose, en présence du gaz d'éclairage. Leur dispositif est très pratique; il suffit de brancher le tube d'arrivée du gaz au col du matras et d'adapter, sur une tubulure latérale soudée à la base de ce col, un second tube de caoutchouc se rendant au brûleur de Bunsen. Le gaz arrive à la surface du milieu nutritif avant de brûler. On fait passer le courant de gaz pendant quelques secondes avant d'allumer le brûleur, afin d'éviter la formation d'un mélange détonant. Une ébullition de quelques minutes suffit. Le milieu est ensuite réparti par la tubulure latérale dans des tubes à essai où l'on a chassé l'air par un courant de gaz. Lorsque la quantité de milieu est suffisante, tout en laissant arriver encore le gaz par un tube de verre plongeant jusqu'au fond du vase, on verse à la surface quelques centimètres cubes de pétrole ou d'huile stérilisés. Les tubes sont stérilisés à l'autoclave. Pour ensemencer, on fait arriver à nouveau du gaz dans le tube, on incline celui-ci de manière à découvrir le milieu et on inocule avec le fil de platine. Il est possible, en opérant ainsi, d'obtenir des cultures sur plaques de gélatine d'espèces anaérobies en disposant

(1) Kitasato et Weil, Zur Kenntniss der Anaeroben (*Zeitschr. für Hygiene*, VIII, 1890).

(2) Liborius, *Zeitschr. für Hygiene*, I, 1886.

(3) R. Wurtz et Foureur, Sur un procédé facile de culture des microorganismes anaérobies (*Arch. de méd. expér.*, I, 1889, p. 523).

les plaques sous une cloche bien suiffée, à ses bords, traversée par un courant de gaz d'éclairage.

La propriété qu'ont les aérobies vrais d'absorber en un temps assez court tout l'oxygène en dissolution dans un milieu où ils se développent a été utilisée pour procurer un terrain favorable aux anaérobies. C'est du reste ce qui se passe à tout instant dans la nature. Dans bien des putréfactions, par exemple, les espèces très avides d'air envahissent rapidement le liquide qu'elles troublent uniformément. Tant qu'il y a de l'oxygène dissous, elles y végètent abondamment dans toutes les directions. Au fur et à mesure que ce gaz disparaît, les Bactéries quittent les couches profondes et se rapprochent de la surface où il en existe encore. Bientôt on n'en trouve plus qu'à la surface en contact direct avec l'air où elles forment une couche plus ou moins épaisse ou un voile continu; le liquide s'est éclairci, toutes les cellules qu'il contenait sont tombées au fond du vase, mortes asphyxiées, ou ayant donné des spores, et de plus il y a absence totale d'oxygène dans son intérieur, le voile épais formé à la surface en interdisant l'accès. C'est le moment propice pour les anaérobies. S'il en existe des spores, elles germeront dès que l'oxygène aura disparu et pourront continuer longtemps à se multiplier, protégées de l'air par le voile formé d'aérobies, qui consomment l'oxygène au passage. L'expérience réussit au mieux si on la provoque. En semant du *Bacillus subtilis* dans du bouillon, le liquide s'est éclairci au bout de quelques jours et montre à sa surface une membrane épaisse et ridée; les anaérobies s'y développent alors aussi bien que dans un vase vide d'air ou rempli de gaz inerte. Liborius (1) a appliqué avec succès ce principe à la culture des anaérobies dans les milieux solides. Il est arrivé à en obtenir de belles colonies dans des cristallisoirs pleins de gélatine, à la surface desquels il avait fait végéter des Bactéries de putréfaction très avides d'oxygène. L'expérience démontre qu'un anaérobie strict peut vivre indéfiniment dans un milieu et y pulluler, s'il est protégé de l'action de l'oxygène par une association

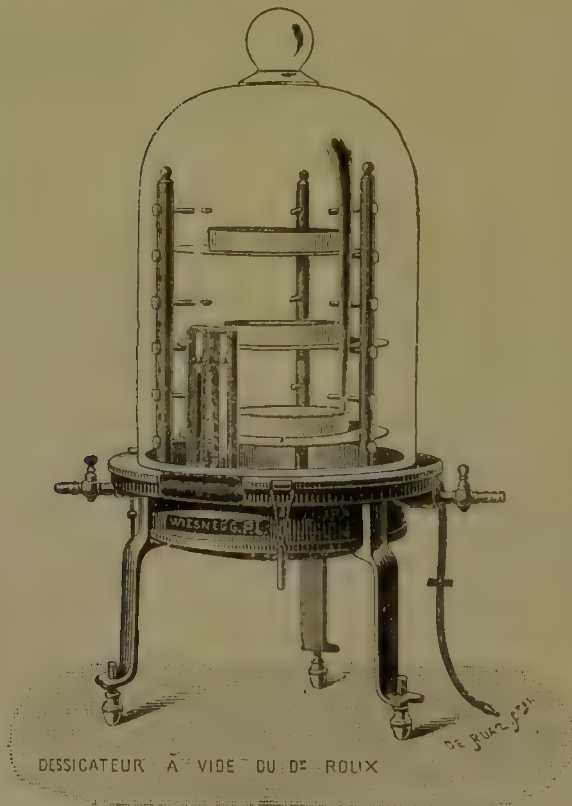


Fig. 116. — Cloche pour cultures et évaporations dans le vide.

(1) Liborius, Beiträge zur Kenntniss des Sauerstoffbedürfnisses des Bacterien (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 1re p., p. 115, 1886).

d'aérobies. Le fait est bien dû, comme l'avait dit Pasteur, à la simple absorption de l'oxygène par les éléments aérobies voisins; Scholtz (1) vient encore d'en donner la preuve, infirmant l'opinion de Kedrowsky (2) qui soutenait qu'il était dû à la production par les aérobies d'un ferment particulier, permettant aux anaérobies de vivre en présence d'oxygène.

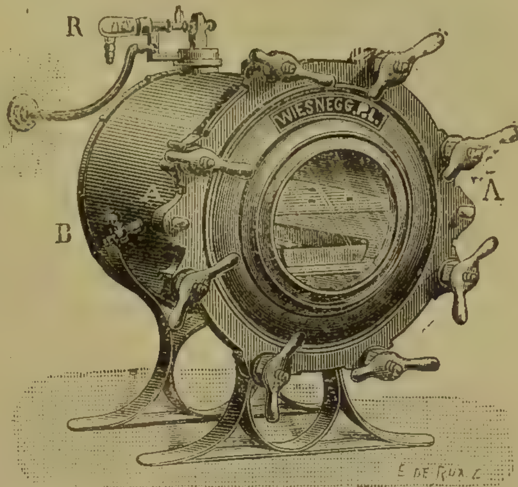


Fig. 117. — Appareil pour cultures dans le vide.

L'emploi du vide, très pratique, rend certainement d'excellents services dans les laboratoires. Il permet surtout de recueillir, à l'état de pureté, les gaz produits par le développement du microbe. La plupart des milieux renfermant de l'eau, l'air retiré est naturellement remplacé par de la vapeur d'eau en proportion plus ou moins grande.

Pour obtenir le vide, on peut se servir d'une machine pneumatique quelconque, ou des trompes à eau, qui donnent, il est vrai, un vide moins

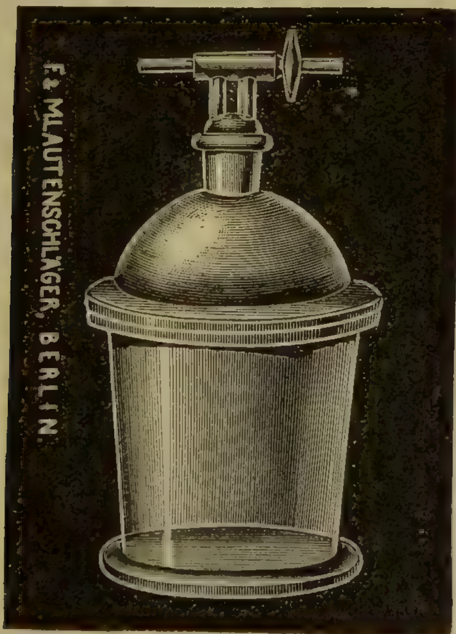
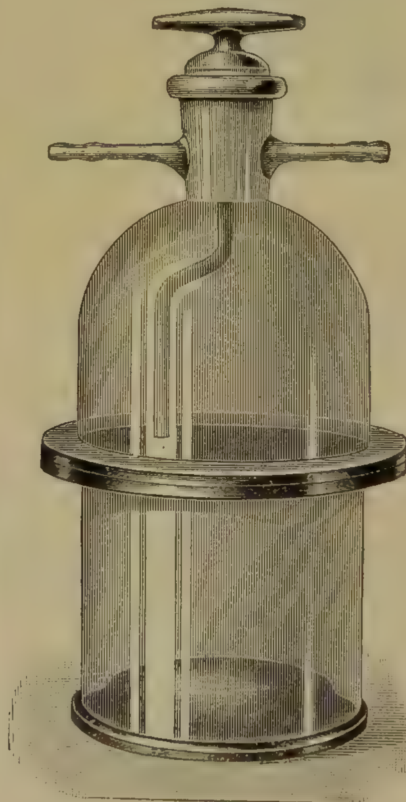


Fig. 118.


Fig. 119.

Appareils de Novy pour cultures d'anaérobies.

parfait que les machines pneumatiques, mais sont d'une installation et

(1) Scholtz, Ueber das Wachsthum anaërober Bakterien bei ungehinderten Luftzustritt (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVII, 1898, p. 132).

(2) Kedrowsky, Ueber die Bedingungen, unter welchen anaërobe Bakterien auch bei Gegenwart von Sauerstoff existiren können (*Zeitschr. für Hygiene*, XX).

d'un maniement beaucoup plus commodes. Avec quelques dispositions de robinets, faciles à combiner, il est possible, le vide fait, de laisser pénétrer un gaz inerte, de l'hydrogène par exemple. Zupnik (1) conseille l'emploi du vide barométrique facile à obtenir à l'aide de dispositifs assez simples.

Le vide peut être fait dans des tubes ou ballons étirés préalablement en un ou plusieurs endroits et garnis de milieu de culture ensemencé. L'obturation s'obtient en fondant au chalumeau la partie étirée. Un simple tube à essai ou un ballon, fermés par un bon bouchon de caoutchouc traversé par un tube de verre que l'on étire après l'opération, peuvent donner de très bons résultats.



Fig. 120. — Appareil de Novy pour cultures d'anaérobies.



Fig. 121. — Boite d'Arens pour anaérobies.

Ou bien, on peut se servir de l'appareil représenté figure 117, permettant de faire des cultures dans le vide de la même façon que les cultures ordinaires. De tels appareils permettent également l'introduction d'un gaz inerte quelconque.

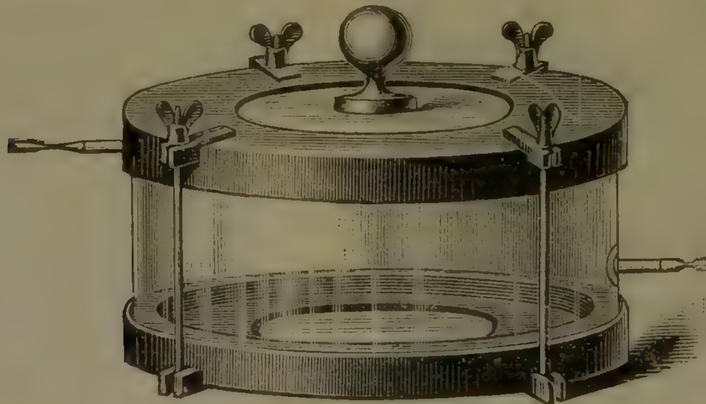


Fig. 122. — Appareil de Baginsky pour anaérobies.

Les petits appareils représentés figures 118, 119, 120, imaginés par Novy, permettent aussi de faire dans le vide ou dans un gaz inerte des cultures en vases de différentes formes. Leur fonctionnement est facile à com-

(1) Zupnik, Ueber eine neue Method anaërober Züchtung (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 267).

prendre: une des tubulures est reliée à la machine à faire le vide, le bouchon-robinet permet de faire entrer un gaz inerte. Les appareils figures 117 et 118 sont formés de deux parties qui se réunissent hermétiquement au moyen d'un anneau de caoutchouc.

L'appareil d'Arens (fig. 120) permet de faire des cultures d'anaérobies comme on fait des cultures d'aérobies en boîtes de Petri. Son fonctionnement se conçoit à la seule inspection de la figure; on le remplit d'un gaz inerte et on ferme les tubes aux effilures.

L'appareil de Baginsky (fig. 121) fonctionne de la même façon et permet de disposer d'un plus grand espace.

Roux (1), dans un travail à consulter, a exposé les méthodes suivies au laboratoire de Pasteur pour cultiver les anaérobies. Pour les cultures dans les liquides, il recommande l'appareil représenté figure 123. C'est un tube à deux branches de Pasteur, étranglé en A et muni, au-dessous de l'étranglement, d'un tampon de coton. Chaque branche est munie d'une effilure latérale. Le tube est stérilisé dans le four à flamber. A l'aide des effilures latérales, que l'on ferme aussitôt à la flamme, on introduit dans une branche du liquide nutritif ensemencé et dans l'autre du liquide pur. On fait le vide plusieurs fois de suite en reliant à une trompe T un des deux robinets supérieurs. On peut faire pénétrer un gaz inerte par le second robinet ou maintenir le vide. Le tube est fondu en A et mis à l'étuve. Pour obtenir une seconde culture, il suffit en inclinant le tube de faire passer une petite quantité du liquide où se développe la Bactérie dans la seconde branche. Si l'on désire examiner le liquide, on relie l'extrémité du tube A au gazomètre G et on casse sa pointe dans le tube de caoutchouc intermédiaire; en brisant l'extrémité d'une effilure latérale, on fait couler la quantité voulue. La culture se continue très bien si l'on referme les deux tubes ouverts sans introduction d'air.

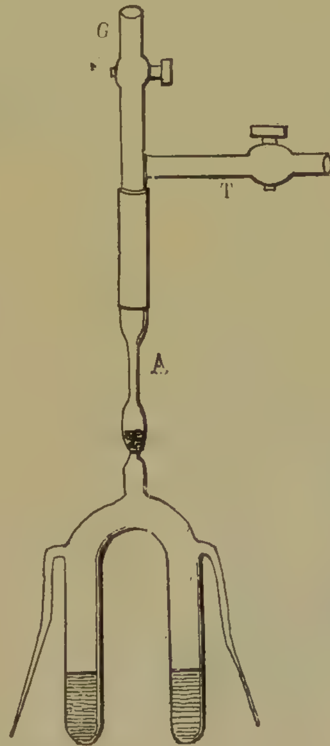


Fig. 123. — Appareil de Roux pour la culture des anaérobies.


Fig. 124. — Tube de Roux.

Pour les milieux solides, Roux emploie, entre autres, le tube figuré ci-dessus (fig. 124). La technique est la même que précédemment. L'ensemencement de la gélatine se fait par la tubulure *a* qui est brisée,

(1) Roux, Sur la culture des microbes anaérobies (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 49).

puis refermée aussitôt. On fond la seconde branche en *b* lorsque le tube ensemencé est vide d'air ou rempli de gaz inerte. En répartissant les germes dans la masse et en couchant le tube, on obtient une sorte de culture sur plaques. Pour atteindre les colonies, on fait sur le tube un trait à la lime sur lequel on applique un charbon rougi ; les deux parties se détachent aussitôt. On trouvera, d'ailleurs, d'intéressants détails dans l'excellent mémoire cité.

Pour obtenir de grandes quantités de cultures en bouillon, on peut user très avantageusement de flacons de un litre et plus fermés par un bon bouchon de caoutchouc percé de deux trous dans lesquels passent deux tubes de verre disposés comme ceux d'une pissette de laboratoire. Le tube qui doit plonger dans le liquide est effilé et fermé à son extrémité libre, l'autre porte un ou deux étranglements sur sa branche libre et est obturé par un tampon d'ouate. Le flacon est rempli de bouillon aux deux tiers et le tout est stérilisé à l'autoclave à 120°. Lorsque le flacon est suffisamment refroidi, on brise l'extrémité effilée du tube et on aspire quelques gouttes de la solution à ensemencer; on referme ce tube au feu. On fait ensuite dans l'appareil le vide aussi complet que possible avec une bonne trompe. On fait à une ou deux reprises passer de l'hydrogène dans le flacon et on ferme en fondant un des étranglements du second tube. On opère de même en petit avec des appareils tels que ceux de la figure 125.

Nous avons vu précédemment (page 220), la modification proposée par Roux pour obtenir des cultures sur pommes de terre à l'abri de l'oxygène.



Fig. 125. — Appareils pour cultures d'anaérobies.

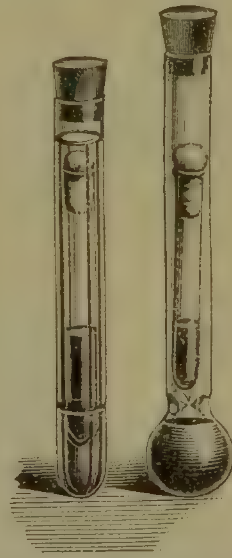


Fig. 125 *bis*. — Cultures d'anaérobies à l'aide du pyrogallate de potasse.

Büchner (1) a mis très heureusement à profit, pour cultiver les anaérobies, la propriété que possède le mélange d'acide pyrogallique et de potasse d'absorber rapidement une forte proportion d'oxygène. A froid, vers 0°, cette absorption est très lente ; à 20°, elle se fait bien. La solution est versée dans une enceinte bien bouchée dans laquelle se place

(1) Buchner, Eine neue Methode zur Kultur anaërober Mikroorganismen (*Centralbl. für Bakt.*, IV, 1889).

le vase contenant le milieu de culture, sans qu'il puisse y avoir mélange naturellement. La lessive alcaline n'est ajoutée qu'en dernier et le vase externe immédiatement bouché; elle brunit très vite par suite de l'absorption de l'oxygène. Pour un espace de 100 centimètres cubes à peu près, on emploie 1 gramme d'acide pyrogallique et environ 10 centimètres cubes de lessive de potasse au dixième. Au bout d'un jour, il n'y a plus trace d'oxygène. Pour les petites cultures, la figure 125 *bis* indique nettement comment il est possible de procéder.

Pour obtenir facilement une culture d'un microbe anaérobie qui puisse servir à se familiariser avec ces différents procédés, Würtz conseille d'immerger dans un tube à essai rempli aux trois quarts de gélose bouillante un ou deux haricots ordinaires. En mettant ce tube à l'étuve à 37°, le lendemain on doit avoir une culture abondante de *Bacillus butyricus*. On peut aussi s'adresser au *Vibrion septique* que l'on obtient souvent du premier coup en inoculant à un cobaye, dans une petite boutonnière de la peau du ventre, une petite quantité de terre de jardin ; la mort survient le plus souvent en trente-six heures ; le sang ou la sérosité péritonéale servent de matière d'ensemencement. La terre, les matières fécales diverses, contiennent beaucoup d'anaérobies intéressants à étudier.

En combinant ces procédés, on peut facilement obtenir des cultures sur plaques à l'abri de l'oxygène. Ces cultures, faites à l'aide de gélatine ou de gélose bouillies et refroidies au degré voulu en présence d'hydrogène, sont placées sur une étagère, sous une cloche dont la base plonge dans un cristallisoir renfermant un peu de vaseline liquide. Cette cloche est traversée par un courant d'hydrogène que l'on peut supprimer après une demi-heure environ ; elle peut en outre contenir une capsule dans laquelle on dépose en dernier un mélange de solution d'acide pyrogallique et de lessive de potasse, destiné à absorber les dernières traces d'oxygène. L'isolement des espèces anaérobies se fait très aisément aussi par la méthode de Vignal décrite précédemment (p. 236).

On peut employer pour l'observation des anaérobies sous le microscope la chambre à gaz de Ranvier décrite précédemment (p. 222). Les deux tetons latéraux du porte-objet métallique sont mis en communication avec la source de gaz, hydrogène, acide carbonique ou azote. La culture se trouve complètement baignée par le gaz choisi. On suit facilement ainsi les phases intéressantes du développement d'espèces que l'oxygène tue, la division et la formation des spores surtout. On peut le faire tout aussi facilement à l'aide des lentilles de verre soufflées et aplaties dont Pasteur s'est servi au début de ses recherches sur les anaérobies, en particulier sur la fermentation butyrique.

Il est du reste facile d'imaginer, pour l'obtention de cultures et l'isolement des microbes anaérobies, beaucoup d'autres petits dispositifs particuliers répondant à des besoins spéciaux. On trouvera des indications complémentaires dans des mémoires de Ucke (1), Trenkmann (2), Marpmann (3).

(1) Ucke, Eine Beitrag zur Kenntniss der Anaëroben (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 996).

(2) Trenkmann, Das Wachstum der anaëroben Bakterien (*Ibid.*, p. 1038).

(3) Marpmann, Eine neue Method zur Herstellung von anaëroben Rollglaskulturen mit Gelatine und Agar (*Ibid.*, p. 1090).

4. Cultures dans les milieux colorés.

En ajoutant des matières colorantes diverses aux milieux de culture et y ensemençant des Bactéries, on peut observer des modifications importantes de la couleur, variations de teintes, décoloration, corrélatives au développement du microbe. Ces réactions peuvent renseigner sur la biologie de l'espèce en culture ou servir à la différenciation d'espèces voisines par d'autres caractères.

Duclaux a fait connaître une des premières applications de cette méthode en provoquant le développement de diverses espèces dans des milieux, le lait surtout, colorés à l'aide de *teinture de tournesol* dont la nuance varie selon que le milieu est acide ou alcalin. Il ne faut pas ajouter la teinture de tournesol avant la stérilisation, le chauffage pouvant produire une décoloration ou un virage ; mais ajouter au milieu déjà stérilisé une quantité de teinture suffisante pour lui donner une nuance bien franche. C'est surtout de la teinture de tournesol bleue qu'on se sert ; elle vire au rouge lorsque le microbe produit de l'acide aux dépens du milieu. Comme cette production d'acide se fait surtout avec les sucres, il est nécessaire qu'il y en ait dans le milieu employé. Aux milieux qui n'en contiennent pas, il faut alors ajouter 2 p. 100 de matière sucrée, lactose ou glucose suivant le besoin. On a ainsi des gélatine, gélose, bouillon, lactosés ou glucosés. Ces milieux, ou d'autres milieux sucrés naturels comme le lait, bien stérilisés, sont alors additionnés, à l'aide d'une pipette stérilisée, d'une quantité suffisante de teinture de tournesol préalablement stérilisée à l'autoclave par petites quantités.

D'autres colorants, et en particulier des couleurs d'aniline, peuvent être employés dans des buts similaires. Les décolorations ou changements de nuance se produisent alors, le plus souvent, sous l'influence de processus de réduction ou d'oxydation que la vie microbienne produit dans la culture. Il y a même parfois absorption et en quelque sorte condensation de la matière colorante par le microbe ; le milieu se décolore progressivement, en même temps que les éléments microbiens fixent pour ainsi dire la couleur.

Spina (1) avait observé qu'en colorant de la gélatine ou de la gélose avec quelques gouttes de solution concentrée de sulfo-indigotate de soude ou de bleu de méthylène, et en y ensemençant certaines Bactéries, on voyait au bout de peu de temps la nuance changer considérablement à la suite de la prolifération de la Bactérie. D'Abundo (2) avait remarqué que dans un milieu coloré avec un peu de fuchsine, de bleu de méthylène ou de brun de Bismarck où était ensemencé du *Bacille typhique*, il se produisait en quelques jours une décoloration pendant que les microbes prenaient fortement la matière colorante. Noeggerath (3) songea le premier à appliquer ces caractères au diagnostic différentiel de certaines espèces et en particulier du *Bacille typhique*, si difficile à reconnaître d'espèces voisines.

(1) Spina, Bacteriologische Versuche mit gefärbten Nährsubstanzen (*Centralbl. für Bakt.*, II, 1887, p. 71).
(2) D'Abundo, *La Riforma medica*, déc. 1887.
(3) Noeggerath, *Fortschr. der Med.*, 1887, p. 1, et *Centralbl. für Bakt.*, III, p. 481.

Ce dernier auteur mélange dans l'ordre cité les quantités suivantes de solutions aqueuses saturées de plusieurs couleurs d'aniline :

Bleu de méthylène	2 centimètres cubes.
Violet de gentiane	4 —
Vert de méthyle	1 centimètre cube.
Chrysoïdine	4 centimètres cubes.
Fuchsine	3 —

puis complète à 200 centimètres cubes avec de l'eau distillée. Le liquide (*Liquide de Noeggerath*) a une coloration brunâtre tirant sur le bleu et colore le papier à filtrer en gris foncé ou bleu noirâtre. Il est préférable de le conserver une quinzaine de jours avant de s'en servir : il se produit pendant ce temps des modifications de couleur que l'on corrige en ajoutant un peu de l'une ou l'autre des couleurs, de manière à revenir à peu près à la nuance première.

A un tube à essai de gélatine liquéfiée, il ajoute de sept à dix gouttes de la solution et coule le mélange dans un godet ou sur une plaque de verre. La Bactérie à étudier est inoculée à la surface par plusieurs stries. La culture provoque d'intéressantes modifications de couleur; d'ordinaire elle forme une bande colorée entourée d'un liséré plus clair. Pour le *Bacille typhique* en particulier, la culture se colore en violet-évêque et le milieu se décolore autour d'elle. Un Streptocoque isolé du mucus utérin dans un cas de fièvre puerpérale donne une culture d'un rouge orangé.

Dans les milieux liquides, c'est le dépôt qui se forme d'ordinaire au fond du vase qui se colore, le liquide se décolore peu à peu.

Gasser (1) a obtenu de meilleurs résultats pour le *Bacille typhique* en se servant uniquement de fuchsine ajoutée au milieu jusqu'à production d'une belle teinte rouge. En plaçant à l'étuve à 39° des plaques de gélose colorées à la fuchsine, inoculées en stries avec du *Bacille typhique*, la culture qui se forme prend au bout de deux jours une teinte rouge très manifeste, tandis que la gelée se décolore tout autour. La fixation de la couleur par la culture continue à se faire les jours suivants; six ou huit jours après, toute la gelée est décolorée. Des espèces voisines de celle en question présentèrent des réactions toutes différentes.

Ramond (2) conseille l'emploi de rubine acide; Robin (3) celui du bleu de méthylène.

Tous ces procédés ne sont guère employés que pour la diagnose du *Bacille typhique*; à ce propos, il sera donné sur eux de plus amples détails.

Rothberger (4) a étudié les caractères des cultures d'une série d'espèces, *Colibacille*, *Bacille typhique*, *Pneumobacille*, *Bacille virgule du choléra* et autres similaires, sur des milieux additionnés de couleurs

(1) Gasser, Thèse de Paris et Culture du Bacille typhique sur milieux nutritifs colorés (*Arch. de méd. expér.*, II, 1890, p. 750).

(2) Ramond, *Presse méd.*, 1896, p. 392.

(3) Robin, Sur un nouveau milieu coloré pour la différenciation du Colibacille et du Bacille d'Eberth (*Soc. de Biol.*, 26 janvier 1897).

(4) Rothberger, Differenzialdiagnostische Untersuchungen mit gefärbten Nährböden (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 513; XXV, 1899, p. 15 et 69).

d'aniline très diverses et en a tiré des indications pouvant être utiles pour la diagnose de ces espèces.

La cause des phénomènes ainsi produits est peu connue. Elle est peut-être liée à une oxydation ; de semblables milieux exposés à l'air se décolorent en effet au bout d'un temps assez long sans qu'aucune Bactérie se développe dans leur masse.

5. Ensemencement des cultures et isolement des espèces.

Prenons, pour commencer, le cas le plus simple, où l'on a affaire à une espèce pure parfaitement isolée, ou à une substance n'en renfermant qu'une seule. Les conditions à remplir sont de prendre de cette matière d'inoculation sans y mêler de germes étrangers et de transporter la partie recueillie dans un milieu de culture rigoureusement stérilisé, sans introduire en même temps de Bactéries du dehors, qui viendraient fausser les résultats. Ces trois propositions, *pureté de la matière à ensemencer*, *stérilité absolue du milieu de culture*, *possibilité d'introduction de germes étrangers dans la manipulation*, doivent être continuellement présentes à l'esprit de l'observateur qui s'efforcera toujours d'éviter, dans la mesure du possible, des causes d'erreurs aussi explicables.

Pour puiser de la matière à inoculer, on se sert avantageusement d'une aiguille en fil de platine, que l'on confectionne en fixant un fil assez fort, de 5 à 6 centimètres de longueur, dans une tige de bois ou dans une baguette de verre rougie au feu (fig. 126). L'extrémité peut être droite, recourbée en crochet ou en anse simple ou double. Cette dernière disposition est commode pour prendre des liquides dont on veut une certaine quantité. A recommander de *ne jamais omettre de stériliser l'aiguille, en la faisant rougir dans la flamme, avant et après chaque opération* ; on la laisse refroidir quelques secondes avant de s'en servir. On doit avoir de ces fils de différentes grosseurs pour les diverses opérations où on les emploie ; les fils fins, se refroidissant vite, doivent servir pour les ensemencements ; ils ne doivent cependant pas être assez fins pour plier lorsqu'on les enfonce dans un milieu solide comme les gelées habituelles. De gros fils aplatis en spatule à l'extrémité sont souvent fort utiles. L'aiguille de platine peut être remplacée par toute aiguille de métal pouvant être chauffée au rouge ; cependant, les autres métaux, traités de cette façon, s'altèrent trop vite. On peut aussi employer des baguettes de verre de petit diamètre, étirées à leur extrémité.

Fig. 126. — Aiguille en fil de platine.

Lorsqu'il s'agit de liquides dont on veut recueillir une certaine quantité, ou, à plus forte raison, qu'on doit transporter, il faut les récolter à l'aide de pipettes de verre soigneusement stérilisées. On peut prendre de toutes petites pipettes du commerce, de 1/2 ou de 1 centimètre cube ; il est plus facile d'en fabriquer soi-même (fig. 129), qui répondent

bien mieux au besoin, en étirant à la flamme des tubes de verre de petit diamètre. On leur donne la longueur nécessaire, on en ferme à la flamme l'extrémité effilée et on bouche l'autre avec un tampon de coton. On en stérilise un certain nombre en provision, en les plaçant dans une boîte métallique ou dans une grosse éprouvette de verre bouchée avec du coton, et en les soumettant, pendant une heure ou une heure et demie, à une température de 150° environ dans le stérilisateur à air chaud. Pour faire la prise de liquide, on casse la pointe effilée, après l'avoir chauffée, dans une flamme, et on la plonge dans le liquide; on peut aspirer légèrement par l'extrémité opposée ou laisser le liquide monter par capillarité. La pointe peut être fermée à nouveau au feu et le contenu conservé le temps voulu, complètement à l'abri des germes étrangers. On fabrique facilement de petites ampoules dites ampoules à vaccin, en étirant un tube aux deux bouts.

Pour ensemencer le milieu de culture, lorsqu'il s'agit d'un milieu liquide, on débouche avec soin le vase qui le contient et on agite l'aiguille qui porte la parcelle d'inoculation, de façon à la dissocier dans la masse; le vase est ensuite rapidement fermé. Si la substance à inoculer a été récoltée dans une pipette de verre, comme nous venons de l'indiquer, la pointe étirée est chauffée dans la flamme, puis brisée après refroidissement, avec une pince flambée : une gouttelette vient sourdre à l'extrémité; on ensemence comme avec l'aiguille de platine, en prenant les mêmes précautions. Le liquide est parfois trop visqueux pour sortir de la pointe capillaire; on souffle alors légèrement dans la pipette par l'extrémité opposée munie du tampon d'ouate. Il est à recommander, dans ces opérations, de tenir le vase légèrement incliné pour éviter le plus possible la chute des poussières de l'air par son ouverture.



Fig. 127. — Inoculation en piqûre.



Fig. 128. — Inoculation en strie.

Pour inoculer les milieux solides, on frotte à leur surface ou on introduit dans leur masse la pointe de l'aiguille ou de la pipette, chargée de la substance à ensemencer. Quand ce sont des tubes contenant des gelées solidifiées, l'inoculation peut se faire par *piqûre* (*Stichcultur*), lorsque le tube a été refroidi dans la position droite (fig. 127); l'aiguille est enfoncée dans la gelée, perpendiculairement à la surface, d'une profondeur variable; on peut faire simplement un point ou tracer une piqûre de plusieurs centimètres. Quand les tubes ont été placés dans une position inclinée pour disposer d'une plus grande surface de gelée, l'inoculation se fait en traçant un ou plusieurs *traits*

ou *stries* (*Strichcultur*) sur la surface de la gelée (fig. 128); l'aiguille doit toujours entamer au moins un peu la surface du milieu, de manière à mettre la semence en contact avec une couche qui n'est pas desséchée, ce qui arrive souvent à la surface, lorsque les tubes sont conservés depuis quelque temps. Pendant l'opération, le tube doit toujours être tenu horizontalement ou, mieux, l'orifice tourné vers le bas; nous verrons, en effet, qu'on évite ainsi la contamination par les germes de l'air, qui, lorsque l'atmosphère est calme, tombent toujours suivant la verticale. La bourre d'ouate, fermant le tube, a été enlevée au début et placée entre deux doigts de la main gauche qui maintient le tube à inoculer, de façon à éviter le contact de sa partie inférieure avec la main. Aussitôt l'inoculation faite, elle est remise en place, avant que le tube soit redressé, après qu'on a pris soin de la flamber légèrement.

On opère de même pour ensemencer d'autres milieux solides. Il est souvent avantageux de mêler plus intimement la substance d'inoculation au milieu. Pour les cultures sur pomme de terre, par exemple, on peut prendre la semence avec un scalpel ou une petite spatule et l'étendre à la surface de toute la culture, en la mélangeant à la couche superficielle qu'on racle légèrement.

Lorsqu'on doit puiser la matière à inoculer dans les tissus ou dans un organe, le manuel opératoire se complique beaucoup à cause des nombreuses contaminations possibles par les espèces qui foisonnent au voisinage.

Pour recueillir du sang ou du pus, la peau de l'endroit où l'on veut opérer est soigneusement lavée et brossée au savon, frottée avec une solution de sublimé, puis lavée à l'alcool et à l'éther qui s'évapore très rapidement. Lorsqu'on veut du sang en petite quantité, on le recueille facilement à l'extrémité d'un doigt, dont on comprime la base pour faire affluer le sang au bout. Le pus est pris dans un foyer purulent non encore en communication avec l'extérieur, si c'est possible. La peau est fendue ou piquée avec un scalpel stérilisé; les premières gouttes de sang ou de pus doivent être laissées; lorsqu'on peut le faire, on ne se sert que des suivantes qui seront inoculées immédiatement ou enfermées dans des pipettes stérilisées. Pour recueillir et conserver des liquides de l'organisme, les modèles de pipettes et tubes dits à vaccin représentés figure 129 conviennent parfaitement. On les prépare facilement soi-même avec des tubes de verre et une lampe d'émailleur; la manière de s'en servir se conçoit d'elle-même. Les modèles représentés figure 130 servent à recueillir une plus grande quantité de liquide.

Si l'on veut puiser dans l'intérieur d'un organe épais, foie ou rate, par exemple, on ne réussit d'habitude qu'en s'entourant de grandes précautions et en suivant les recommandations si bien indiquées par Gafky (1). L'organe recueilli le plus tôt possible après la mort, immédiatement après lorsqu'il s'agit d'animaux d'expérience, est lavé à la surface avec une solution de sublimé à 1 p. 100, et, s'il doit être transporté, entouré d'un linge imbibé de la même solution. On doit mettre

(1) Gaffky, Zur Ætiologie der Abdominaltyphus (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, 1884).

à sa portée, sur la table de travail, une provision de scalpels, des pinces et quelques aiguilles de platine stérilisés. Les instruments d'acier sont stérilisés dans une boîte en tôle ou dans une grosse éprouvette fermée avec un tampon d'ouate, qu'on laisse une heure environ dans le stérilisateur à air chaud à 150°. On ne les prend qu'un à un, au fur et à mesure du besoin, en ayant soin chaque fois de fermer la boîte ou le tube, pour éviter l'apport de germes de l'air. Une première coupe est faite perpendiculairement à la surface avec un scalpel *encore brûlant* ; elle doit intéresser presque toute l'épaisseur de l'organe. A l'aide d'un *autre* scalpel refroidi, on fait une seconde section perpendiculaire à la première ; une troisième coupe, faite avec un *nouvel* instrument dans un autre sens, met à découvert des couches plus profondes; on en fera même une quatrième si c'est nécessaire. Chaque opération doit être exécutée avec un couteau fraîchement stérilisé; il est à conseiller de n'employer jamais deux fois le même instrument. C'est dans la dernière section que l'on recueille, à l'aide des aiguilles stérilisées, la substance d'inoculation, qui doit être introduite le plus rapidement possible et avec les plus grandes précautions dans les milieux de culture disposés à l'avance.

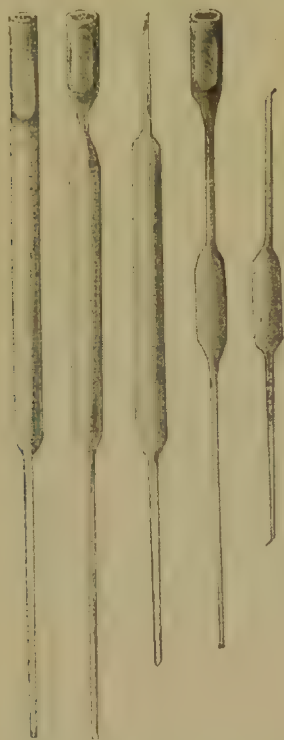


Fig. 129. — Pipettes et tubes à vaccin.



Fig. 130. — Pipettes.

Les couteaux rougis des thermocautères sont d'un excellent usage pour pratiquer les premières incisions; on ne doit jamais cependant prendre de substance à inoculer dans le voisinage immédiat des sections faites à leur aide, leur température élevée ayant pu agir sur les germes qui s'y trouvent.

On a parfois recours, dans l'étude des Bactéries pathogènes, à la ponction d'organes profonds qui, pour le poumon et la rate en particulier, peut se faire sans crainte, pourvu qu'on opère avec une antisepsie rigoureuse. La peau recouvrant l'organe à ponctionner, dont la situation doit être très exactement déterminée d'avance, est lavée avec soin au savon, avec une solution de sublimé, puis à l'alcool et à l'éther. On pousse rapidement un long trocart capillaire *sûrement stérilisé*, jusqu'à la profondeur voulue. En retirant l'aiguille, une certaine quantité de sang ou de liquide pénètre dans la canule, que l'on sort et à l'aide de laquelle on ensemence les cultures. La petite plaie doit être recouverte d'un léger pansement antiseptique. On peut aussi se servir et avec avantage, pour retirer du sang d'une veine ou d'un organe profond, d'une seringue à canule longue et acérée telle que celles qui seront décrites plus loin. L'appareil doit naturellement être dûment stérilisé ainsi que la peau à l'endroit où doit se faire la ponction.

Dans les opérations précédentes, nous avons admis que la matière à inoculer ne renfermait qu'une seule espèce de Bactéries, celle dont on veut obtenir une culture pure. C'est le cas le plus simple. On a fréquemment affaire à un mélange d'espèces qu'il faut alors isoler les unes des autres pour obtenir des cultures pures de l'une d'entre elles ou de chacune d'elles. Diverses méthodes peuvent conduire à les séparer. La première en date est la méthode de *dilution dans les liquides* imaginée par Naegeli (1), appliquée et perfectionnée depuis par de nombreux observateurs, surtout Brefeld (2) et Miquel (3). Une faible parcelle de la substance à étudier est diluée avec soin dans une quantité de liquide stérilisé, eau ou bouillon, telle qu'on puisse être assuré qu'un volume déterminé de la dilution, goutte ou centimètre cube suivant le besoin, ne contienne qu'une seule Bactérie. Si l'on veut examiner une infusion ou une macération, par exemple, une goutte du liquide, prise avec une pipette stérilisée, est mélangée à 50 ou 100 ou 500 centimètres cubes d'eau stérilisée. On ensemence avec une goutte de la dilution une série de flacons, dont une partie doit rester stérile pour qu'on ait une certitude suffisante d'avoir poussé assez loin la dilution. Dans le cas contraire, il faut faire une seconde dilution avec une goutte de la première et arriver parfois jusqu'à une troisième. Cette méthode, qui exige une grande installation, puisqu'on est souvent obligé d'employer un nombre considérable de ballons, de cinquante à cent et plus, a donné d'excellents résultats entre les mains de Miquel, pour le dénombrement des Bactéries de l'air, des eaux ou des poussières. Elle a été aussi employée avec succès par Van Tieghem et Le Monnier (4) pour l'étude, en cultures cellulaires, de Champignons plus élevés.

On peut arriver à son but en faisant toute une série d'ensemencements successifs, sur les mêmes milieux ou sur des milieux différents. Après un certain nombre de cultures, une espèce prédomine souvent; on peut facilement l'obtenir pure.

(1) Naegeli, Untersuchungen über niederen Pilze, 1878.

(2) Brefeld, Untersuchungen über die Spaltpilze, Bacillus subtilis. Berlin, 1878.

(3) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère, Paris, 1882, et *Annuaire de l'Observ. de Montsouris*, 1881-1891.

(4) Van Tieghem et Le Monnier, Recherches sur les Mucorinées (*Ann. des sc. nat.*, *Bot.*, 5e série, t. XVII, 1873).

En inoculant sur une grande longueur une très faible quantité de matière à examiner sur un milieu solide, on obtient souvent le développement de colonies, bien isolées au début lorsqu'elles ne sont pas trop nombreuses et que la substance d'ensemencement était en très minime proportion. Il suffit d'ensemencer chacune d'elles séparément. C'est un procédé fort à recommander pour l'étude de liquides peu riches en Bactéries, sang ou pus par exemple. On trempe un fil de platine, le plus légèrement possible, dans le liquide à examiner, et on fait à son aide une ou plusieurs stries d'inoculation à la surface d'un tube de gélose ou d'un petit cristallisoir à couvercle contenant de la gélose. Il est bon de faire successivement plusieurs stries parallèles sans recharger l'aiguille. De cette façon, si la substance est très riche en Bactéries, il pourra n'en rester qu'un nombre très minime sur le fil de platine pour les derniers traits d'inoculation; le premier ou les premiers ne donneront qu'un amas confus de colonies peu isolables, tandis qu'elles seront nettement séparées dans les derniers.

Pour isoler une espèce, on peut soumettre le mélange à des influences qui tuent les autres et auxquelles elle seule résiste. La *chaleur* est l'agent le plus employé. Pour isoler le *Vibrion septique*, Pasteur recommande (1) de traiter l'eau de lévigation des terres qui en contiennent par une température de 90° maintenue quelques minutes. La chaleur tue d'autres germes moins résistants et le liquide, injecté sous la peau d'un lapin, détermine les accidents typiques, causés par le développement dans l'organisme de cette seule espèce. Miquel (2) a séparé le *Bacillus ureæ* du *Micrococcus ureæ*, dans l'urine putréfiée et les eaux d'égout, en chauffant le liquide pendant deux heures de 80 à 90 degrés. Le *Micrococcus ureæ* meurt à cette température que supporte très bien la première espèce; le liquide ainsi traité, mis en culture, donne du *Bacillus ureæ* pur. On utilise du reste couramment cette méthode d'isolement pour obtenir le *Bacillus subtilis*. Les spores de cette espèce, très répandues dans la nature et en particulier abondantes sur les herbes sèches, résistent longtemps à une chaleur de 100°, qui tue au contraire la plupart des espèces qui les accompagnent. En faisant bouillir pendant une demi-heure ou trois quarts d'heure une macération de foin, elles gardent seules toute leur vitalité et germent lors du refroidissement, tandis que les autres sont mortes. L'ébullition est en général un moyen excellent et très pratique pour isoler les espèces qui forment des spores de celles qui n'en produisent pas; nous savons en effet (Voy. p. 75) que, la plupart du temps, ces corps reproducteurs résistent parfois à une température de 100° et plus.

On peut encore mettre en œuvre pour isoler une espèce la méthode dite de la *culture élective* de Winogradsky (3). Pour ce savant, une culture est élective quand elle ne présente de conditions favorables qu'à la manifestation d'une seule fonction déterminée ou plus exactement d'une fonction aussi étroitement limitée que possible. Plus ces conditions

(1) Pasteur, Sur le Vibrion septique (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1877).

(2) Miquel, Nouvelles recherches sur le Bacillus ferment de l'urée (*Bull. de la Soc. chim.*, XXXII, 1879, p. 126).

(3) Winogradsky, Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes (*Arch. des sc. biol. de l'Inst. imp. de méd. de Saint-Pétersbourg*, III, 1894, n° 4).

seront étroites, exclusives en quelque sorte, plus l'espèce qui est douée de cette fonction sera favorisée aux dépens des autres qui auront la vie moins facile, pénible ou même impossible ; le microbe spécifique dominera. Il faut donc, pour arriver à l'isoler ainsi : 1° trouver un ensemble de conditions de culture appropriées; ce sera la nature des fonctions connues ou supposées du microbe qui guidera dans la constitution et la disposition du milieu ; 2° bien saisir les caractères morphologiques du microbe prédominant pour ne pas les perdre de vue jusqu'à ce qu'on ait réussi à l'isoler et à l'obtenir en culture pure.

L'addition de substances antiseptiques peut donner de bons résultats. Les diverses espèces sont en effet loin de réagir d'une façon identique ; une dose, mortelle pour l'une d'elles, laisse encore le développement d'autres s'effectuer. La présence d'un peu d'acide phénique dans la gélatine, conseillée par Chantemesse et Widal, permet d'isoler plus facilement le *Bacille typhique* et le *Colibacille* des eaux contaminées, en empêchant le développement des colonies liquéfiantes qui détruisent trop souvent les cultures.

Cependant, la véritable méthode d'isolement des espèces est celle des cultures sur plaques, que nous avons décrite précédemment avec détails (p. 222) et sur laquelle nous ne reviendrons pas. La dilution des germes dans la masse de gélatine doit être suffisante pour que les colonies soient bien séparées les unes des autres. De cette façon, après avoir constaté les caractères particuliers des colonies de l'espèce que l'on veut isoler, à l'aide de la loupe ou du microscope, on en prélève une faible parcelle à l'aide d'une aiguille stérilisée et on ensemence avec elle les milieux que l'on juge convenables au développement de cette espèce. La technique de cette *prise de semence* a été indiquée précédemment (p. 246).

Les Bactéries anaérobies s'isolent facilement par des procédés spéciaux qui ont été décrits précédemment (p. 234).

Nous savons aussi que certaines espèces pathogènes se séparent pour ainsi dire toutes seules dans l'organisme animal. Inoculées à des animaux dans un mélange, elles se développent d'une façon luxuriante aux dépens des autres qu'elles étouffent rapidement. L'organisme offre alors tous les caractères d'une culture pure; il peut fournir de la semence absolument pure pour les cultures. C'est ce qui s'observe pour le *Bacillus septicus*, le *Bacillus anthracis*, le *Bacillus tuberculosis*, le *Pneumocoque*, entre autres.

Il est du reste un moyen très sûr et très pratique de s'assurer de la pureté d'une culture, moyen qui ne doit jamais être négligé : c'est la culture sur plaques. On arrive rapidement, en y procédant, à contrôler les expériences et à isoler l'espèce voulue, si d'autres s'y étaient accidentellement mélangées.

La contamination, assez fréquente encore dans les cultures les mieux conduites, provient de causes diverses qu'il est important de connaître pour pouvoir plus facilement les combattre. Les germes étrangers peuvent venir de l'air, du vase de culture, du milieu de culture, et de la substance d'inoculation.

L'air tient en suspension beaucoup de Bactéries, dont le nombre varie dans des proportions et suivant des causes que nous étudierons plus loin. Il peut s'en introduire quelques-unes pendant le cours des manipu-

lations, en particulier dans le vase de culture, lorsqu'on l'ouvre pour l'ensemencer. Cette cause de contamination est loin d'avoir en réalité l'importance qu'on est porté à lui attribuer. Pasteur (1) avait déjà montré que l'air calme est peu riche en Bactéries; Miquel (2) a établi, par des expériences précises, des moyennes très concluantes. D'après les recherches de ce savant observateur, la contamination des ballons de culture au bouillon de bœuf, ouverts le temps nécessaire pour l'inoculation, serait de 1 p. 200 à la caserne Lobau, en pleine agglomération, de 1 p. 500 à l'observatoire de Montsouris, et seulement de 1 p. 2500 en plein air au parc Montsouris. De plus, Pasteur a depuis longtemps prouvé que dans un air relativement calme les Bactéries en suspension tombaient suivant la verticale et n'avaient jamais de tendance à remonter; si bien que des ballons de bouillon stérilisé, mis en contact direct avec l'air au moyen d'un tube latéral recourbé vers le bas, peuvent se conserver indéfiniment sans présenter de développement de Bactéries dans leur intérieur. Ces résultats ont été confirmés par Hess (3) dans une nombreuse série d'expériences instituées de la façon suivante : quatre tubes renfermant de la gélatine nutritive sont ainsi disposés et ouverts : le premier a son orifice tourné vers le haut, le second l'a dirigé vers le bas, un troisième est placé horizontalement et le quatrième obliquement l'orifice en haut. Sur ces quatre tubes laissés dans leur position un temps assez long, un seul est contaminé, le premier, celui qui a son orifice dirigé en haut. Lors donc que la chose est possible, dans les cultures sur milieux solides surtout, on devra, avant d'ouvrir un vase de culture, diriger son orifice vers le bas, ou même le tenir complètement renversé tout le temps nécessaire à l'opération qu'on exécute et le refermer dans cette position. Il faut en outre n'opérer que loin des courants d'air, dans un endroit où l'air est le moins possible chargé de poussières. On trouvera enfin grand avantage à empêcher la dissémination dans le local occupé des spores de Bactéries ou de Moisissures provenant des cultures abandonnées, qu'on doit détruire avec soin par le feu ou l'eau bouillante ; c'est une petite précaution qui rend de très grands services.

Les vases, s'ils sont passés dans le stérilisateur à air chaud, comme nous l'avons indiqué, peuvent être considérés comme absolument purifiés. Il peut arriver que des Moisissures de l'extérieur envahissent des cultures en végétant au travers des tampons d'ouate, ce qui survient surtout lorsqu'on coiffe les tubes de capuchons de caoutchouc. Il est alors prudent de faire tremper ces capuchons dans la solution de sublimé à 1 p. 1000 pendant quelques heures. On doit du reste vérifier de temps en temps l'état des bourres d'ouate et, dès qu'on y aperçoit des filaments mycéliens ou à plus forte raison des organes reproducteurs de Moisissures, chauffer jusqu'au roussi du coton la portion supérieure du tube, de manière à tuer ces ennemis des cultures. Quand, malgré toutes précautions, il s'en développe dans la culture, on peut encore s'en débarrasser en chauffant à la flamme d'un

(1) Pasteur, Examen de la doctrine des générations spontanées (*Ann. des sc. nat. Zool.*, 1861).

(2) Miquel, *Annuaire de l'Observ. de Montsouris*, 1887.

(3) Hesse, Ueber quantitative Bestimmung der in Luft enthaltenen Microorganismen (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, 1884, p. 187).

bec de Bunsen la partie du vase où elles se trouvent, ou en essayant de détruire les îlots qu'elles forment avec une baguette de verre ou une tige de métal rougie au feu. Il est nécessaire, pour les éviter, de s'astreindre à flamber la bourre chaque fois qu'on l'enlève pour examiner la culture.

La pureté des milieux de culture est obtenue à l'aide des procédés de stérilisation décrits précédemment. Il est toujours bon de faire subir aux vases tout préparés une sorte d'épreuve préalable en les laissant, après leur stérilisation, à la température de l'étuve pendant quelques jours avant de les employer. Passé ce temps, s'il ne se produit aucun changement, ils peuvent être considérés comme bons, bien que certaines espèces semblent demander une plus longue préparation, un mois et plus d'après Miquel (1), pour commencer à croître, mais c'est l'exception. Certains liquides nutritifs cependant peuvent ne présenter aucun signe de putréfaction bien que contenant des germes vivants et aptes à se développer. Cette *stérilisation apparente* provient de la non-appropriation du milieu à l'espèce, et s'observe lorsqu'on fait usage de milieux peu appropriés, les liqueurs minérales par exemple. En ajoutant en effet à des cultures de ces liquides, très claires et ne paraissant contenir aucun germe, une faible portion de bouillon de bœuf sûrement stérilisé, on peut voir le mélange se troubler rapidement, alors que les deux liquides, conservés séparément, seraient restés indéfiniment stériles.

Pour obtenir une culture pure, il faut enfin l'ensemencer à l'aide de substance qui ne contient que l'espèce voulue. Nous connaissons les conditions nécessaires pour obtenir ce résultat. Il peut cependant arriver qu'on obtienne des cultures pures tout en inoculant plusieurs espèces; c'est quand l'une d'elles prend un développement tout à fait prédominant et fait disparaître ses voisines en les étouffant ou en rendant le milieu impropre à leur vie.

6. Développement des cultures et modifications des milieux.

La rapidité du développement, dans des conditions semblables de chaleur et d'aération, correspond toujours à la qualité nutritive du milieu. Aussi est-il nécessaire, lorsqu'on veut établir des comparaisons, de ne se servir que de milieux de composition identique. Pour la *Bactérie du choléra*, par exemple, suivant la puissance nutritive de la gélatine, les cultures présenteront un développement très variable; telle culture de cinq ou six jours, sur gélatine peu nutritive, ne se montrera guère plus développée qu'une autre de deux jours sur gélatine très nutritive. Un liquide minéral n'offrira qu'un léger trouble, après quelques jours d'ensemencement, alors que du bon bouillon de bœuf, mis en observation au même moment, sera devenu presque boueux.

Le développement des Bactéries dans les milieux nutritifs modifie, dans des limites assez larges, la composition et l'aspect de ceux-ci. Ce sont là des caractères de grande importance pour la diagnose des espèces.

Les caractères des cultures dans les milieux liquides, surtout dans

(1) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère. Thèse de Paris, 1882, p. 146.

le bouillon de bœuf qui peut être pris comme type, sont la plupart du temps, quoi qu'on en dise, très probants et très stables. Il faut cependant avouer que les véritables différences sont plus délicates à saisir, qu'il faut une habitude beaucoup plus grande pour les estimer, et enfin qu'il est plus difficile souvent de s'apercevoir d'une contamination par des germes étrangers que dans le cas de cultures sur milieux solides.

Miquel (1) donne comme signes distinctifs les caractères généraux qui suivent :

1° Le liquide reste limpide, il se forme au fond du vase un dépôt qui peut être très léger, floconneux ; il peut être épais, caillebotté ; il peut être gluant, tenant à la paroi du vase. La couleur en est blanche, jaune, rouge, etc.

2° Le liquide se trouble d'abord, puis il se forme un dépôt au fond du vase, ou un voile à la surface du liquide.

Le trouble peut être très faible, ou au contraire plus prononcé ; le liquide peut même devenir boueux.

Les éléments en suspension peuvent alors se déposer au fond du vase en un sédiment d'aspect variable, ou se réunir à la surface du liquide, pour y former un voile mince ou épais, uni ou ridé, sec ou visqueux.

La liqueur peut alors se clarifier ; elle conserve sa couleur primitive, se décolore, ou se teint en bleu, vert, etc. Elle peut devenir visqueuse, filante comme du blanc d'œuf ; dégager des odeurs ammoniacales, aigrelettes ou fétides.

3° La liqueur reste transparente ; il se forme dans la masse des flocons blancs, légers, soyeux, semblables à des houppes de coton flottant dans le liquide, ou plus épais, caillebottés.

L'action de diverses espèces sur le lait a été étudiée par Duclaux (2) et Hueppe (3). Les caractères fournis sont très utiles. Le lait ne s'altère pas ou se coagule. Le coagulum forme une masse gélatineuse ou des grumeaux. Ce coagulum reste solide ou se dissout. La réaction est neutre, acide ou alcaline. Ces derniers caractères se perçoivent très nettement en additionnant le liquide, comme Duclaux l'a fait le premier, d'une petite quantité de teinture de tournesol ; on voit la coloration varier suivant le changement qui est produit.

Les cultures sur milieux solides fournissent des caractères macroscopiques généralement plus faciles à apprécier, et permettent d'isoler plus facilement les espèces. Voyons d'abord les cultures en tubes.

La gélatine, dans une culture en piqûre, peut rester solide ou se liquéfier.

Dans le premier cas, la culture constitue une masse plus ou moins épaisse, homogène ou formée de petites sphères accolées les unes aux autres, qui emplit la piqûre et s'étale ou proémine plus ou moins à la surface en formant une sorte de *tête de clou* (fig. 131), ou un disque. Du canal de la piqûre peuvent partir de fins prolongements qui rayonnent en tous sens, de manière à figurer une houppe soyeuse plongée dans la gelée (fig. 132 et 133).

(1) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère, p. 186.
(2) Duclaux, Mémoire sur le lait, 1882, et Le lait, 1887.
(3) Hueppe, *Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, 1884, p. 309.

Si la gélatine doit se liquéfier, la liquéfaction commence à la surface à l'endroit de la piqûre, puis s'étend peu à peu dans tout le sillon

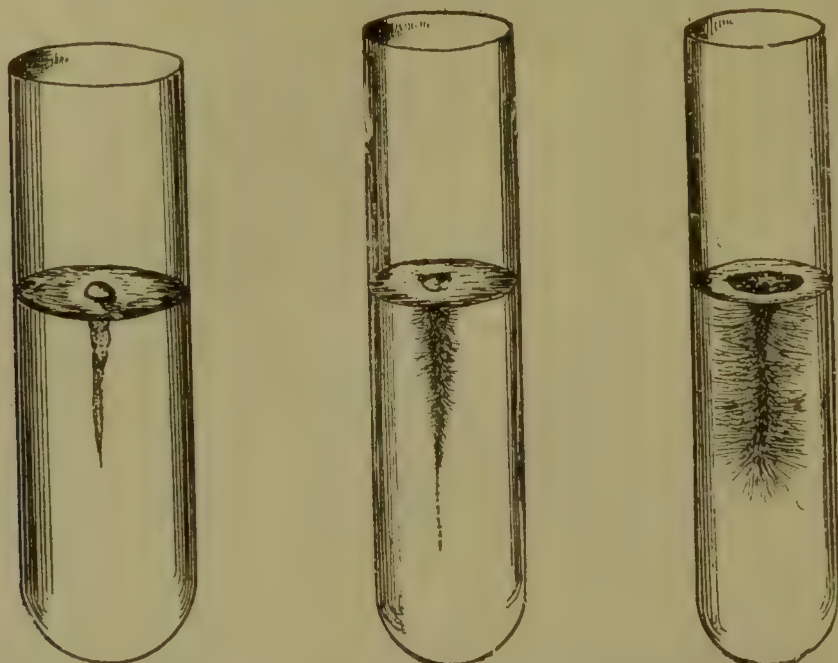


Fig. 131. — *Pneumobacille*, culture en clou.

Fig. 132 et 133. — Jeunes cultures de *Bacillus anthracis* avant liquéfaction de la gélatine.

tracé par l'aiguille. Elle est plus rapide en haut où l'oxygène est en

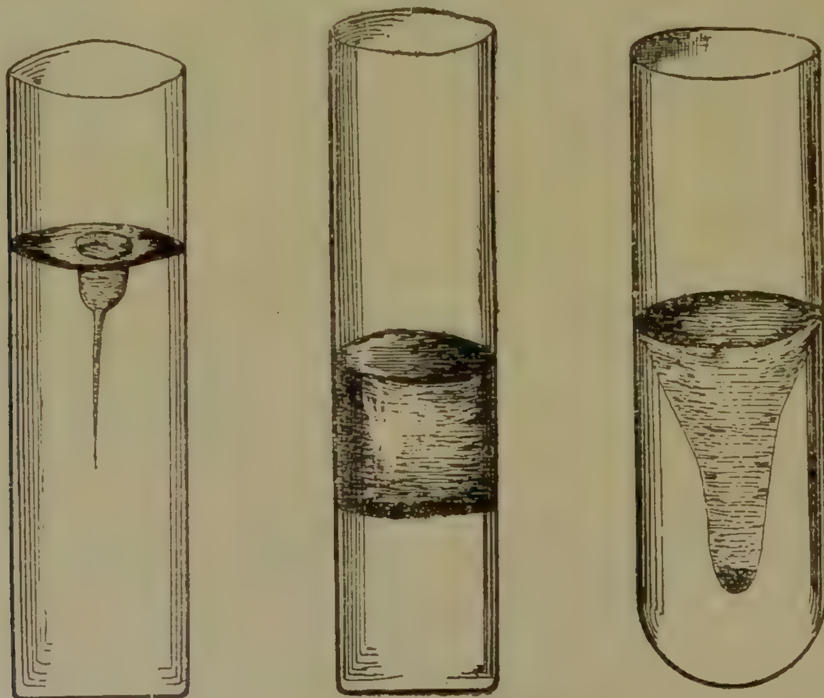


Fig. 134. — Jeune culture de *Bacterium termo*.

Fig. 135. — Culture âgée de *Bacterium termo*.

Fig. 136. — Culture du *Spirillum Finckleri*, âgée de deux jours.

abondance ; il se produit alors une forme analogue à celle représentée figure 132 désignée sous le nom de *liquéfaction en entonnoir*. Le

phénomène progresse, le diverticulum de gélatine liquéfiée devient plus considérable, et donne une sorte de sac creusé dans la gelée et plein de liquide (fig. 134). Enfin la liquéfaction a atteint les bords; la gélatine se liquéfie entièrement ou dans une certaine profondeur seulement (fig. 135) lorsque l'espèce est avide d'oxygène et ne peut conséquemment se développer dans les couches profondes. Dans le liquide formé, la Bactérie se développe comme dans un bouillon ; elle peut se troubler uniformément, ou ne former qu'un dépôt à la partie inférieure. La gélatine liquéfiée peut rester incolore ou se teindre de diverses nuances.

On n'inocule en strie sur gélatine, sur tubes inclinés, que les espèces qui ne liquéfient pas ce milieu. Il se forme le long de la strie un revêtement transparent ou opaque, incolore ou diversement coloré, tantôt très limité, tantôt recouvrant la plus grande partie de la surface inclinée. La gelée peut prendre des teintes variées, verte, rose, brune, suivant l'espèce que l'on cultive.



Fig. 137. — Vieille culture de *Micrococcus pyogenes aureus*.

Les caractères des cultures en tubes sur gélose sont tout aussi variables. La culture s'étend plus ou moins de chaque côté de la strie; elle peut former à la surface un épais revêtement (fig. 137), uni ou plissé, diversement coloré. La Bactérie se développe dans la profondeur de la strie et envoie même parfois dans la gelée des prolongements rameux assez longs ou de grosses masses mamelonnées compactes. Il se condense souvent, à la partie inférieure du tube, une petite quantité d'eau, très utile pour maintenir une humidité constante dans l'appareil; la culture peut atteindre cette minime collection liquide et s'y développer. On peut alors observer côte à côte les particularités du développement de l'espèce dans un liquide et sur un milieu solide.

Les cultures sur pomme de terre ont souvent aussi des aspects importants à connaître. Les espèces chromogènes y forment d'ordinaire d'épaisses membranes colorées de très vives nuances. D'autres donnent des membranes lisses ou plissées ; d'autres, des revêtements épais et gluants. Certaines enfin, comme le *Bacille typhique*, le *Streptocoque pyogène*, se développent à la surface seulement en un enduit mince, brillant, parfois difficile à distinguer.

La forme et l'aspect des cultures que donne chaque espèce sur les différents milieux seront décrits avec soin dans la troisième partie de ce livre.

Les différents procédés de culture cités ne sont pas applicables à toutes les espèces. Certaines ont des besoins spéciaux qui font que, pour des raisons inconnues, un milieu donné, très bon pour beaucoup d'autres, ne permet pas leur développement. Il est quelques espèces qui ne se développent pas sur la gélatine; c'est même là une des grandes objections que l'on fait à la méthode des cultures sur plaques. Par contre, je connais une espèce de l'eau, très voisine du *Bacille typhique*

comme aspect et forme des colonies sur plaques, qui ne se développe pas du tout dans le bouillon et perd, après une culture, la propriété de croître sur gélatine. La conséquence à tirer est qu'il faut toujours cultiver une espèce à étudier sur des milieux divers pour constater le plus qu'on peut de caractères distinctifs.

7. Procédés d'étude des produits formés dans les cultures.

L'importance des substances produites dans les divers milieux nutritifs par la vie des microbes a été proclamée par Pasteur tout au début de ses recherches; il faisait de ces fonctions physiologiques un caractère de tout premier rang dont on devait amplement tenir compte dans l'établissement de l'espèce ou tout au moins du type. On tend aujourd'hui à se ranger, en partie au moins, à cette opinion que les recherches de morphologie avaient, pour un moment, éclipsée ou tenue dans l'ombre. On avait cependant toujours reconnu la valeur de certains des composés formés dans ces conditions. La production d'acide acétique, d'acide butyrique, d'ammoniaque, de différents gaz, de matières colorantes, figurait, souvent au premier rang, dans les diagnoses d'espèces. Pour reconnaître la présence de ces corps, il n'y a qu'à appliquer d'ordinaire les méthodes chimiques habituelles; il est bon, toutefois, pour quelques-uns d'entre eux dont la recherche est fréquente, d'indiquer la manière de faire la plus pratique.

On sait aujourd'hui qu'en première ligne des substances issues de la vie microbienne, comme intérêt, se placent les composés que nous avons vu réunis sous le nom général de *produits solubles*. A cause de l'importance toute particulière qu'on leur attribue, il est nécessaire au bactériologiste de pouvoir en reconnaître la présence dans les milieux où ils ont pu se former et même de chercher à les isoler. Ces produits, souvent très actifs, se rangent en deux catégories. Les uns sont des produits alcaloïdiques, véritables bases formant avec les acides de vrais sels souvent cristallisés, les *ptomaïnes*; les autres, les *toxines* ou *toxalbumines*, sont des substances albuminoïdes, toujours amorphes, se rapprochant par leurs propriétés des diastases, des peptones ou des albumines solubles. Chacune de ces deux catégories demande un procédé d'extraction spéciale ; elles se distinguent surtout, à ce point de vue, en ce que les toxalbumines sont précipitables par l'alcool qui dissout le plus souvent les ptomaïnes ; ces dernières doivent donc être recherchées dans le liquide alcoolique, les premières dans le précipité.

On peut, pour ces recherches, user de cultures complètes, comprenant les microbes tués par les réactifs ou la chaleur ; ou seulement des cultures privées de microbes par la filtration sur papier ou mieux sur bougie Chamberland, comme il a été indiqué p. 204.

Il sera intéressant de rechercher, dans les cultures, les matières colorantes; certains gaz, l'hydrogène sulfuré, que produisent un assez grand nombre d'espèces en réduisant le soufre surtout contenu dans les composés albuminoïdes ; l'ammoniaque, les nitrates et les nitrites, qui proviennent de différents stades de transformations de la matière azotée ; certaines amines, la triméthylamine particulièrement; la leucine et la tyrosine, pouvant indiquer l'action de ferments diastasiques par-

ticuliers; les acides organiques; les alcools, particulièrement l'alcool éthylique; les mercaptans, l'indol, le phénol.

Recherche des ptomaïnes.

Une première méthode très simple, qui n'est guère applicable qu'aux bouillons bien filtrés, consiste à alcaliniser le liquide avec de la potasse pour mettre en liberté les bases organiques et à l'épuiser par l'éther: par évaporation, on obtient un résidu sirupeux, impur, contenant la ptomaïne ou les ptomaïnes. On peut le purifier en traitant par l'acide chlorhydrique et en faisant cristalliser les chlorhydrates à plusieurs reprises. Le chlorhydrate dissous dans de l'eau alcalinisée cède à l'éther sa base devenue libre. C'est là un procédé imparfait à plusieurs points de vue, mais qu'il peut être bon d'employer, surtout lorsqu'on ne cherche que des indications générales, à cause de sa simplicité et de sa facilité d'exécution.

Le procédé le plus recommandable pour l'extraction des ptomaïnes est celui indiqué par Armand Gautier (1). Si l'on a affaire à des produits solides, on les broie et on les épuise à l'eau bouillante ; le liquide est filtré. Si l'on opère sur des bouillons, on les soumet à l'ébullition, puis on les filtre. Dans les deux cas, l'intervention de la chaleur sert à chasser l'ammoniaque libre. Le liquide est précipité par l'acétate de plomb. On filtre et on ajoute au filtratum un léger excès d'acide oxalique qui acidifie la liqueur et précipite l'excès de plomb. On filtre encore et évapore pour chasser les acides gras, en ajoutant de temps à autre un peu d'acide oxalique si l'odeur d'acide acétique ou butyrique se manifeste. On traite alors la liqueur par un lait de chaux très clair, de façon à enlever la majeure partie, mais non la totalité de l'acide oxalique libre; enfin on concentre, s'il le faut, dans le vide, à l'état de sirop épais ; celui-ci est repris par l'alcool à 98°, qui dissout les oxalates des bases. L'alcool est évaporé et l'extrait sirupeux, délayé dans un peu d'eau, est broyé avec son poids d'un mélange de deux parties de craie et d'une partie de chaux éteinte en poudre. On chauffe à 35° ou 40° tant qu'il se dégage l'odeur d'ammoniaque et en recueillant, s'il le faut, les alcaloïdes volatils, puis on épuise par l'alcool à 83° bouillant qui dissout les alcaloïdes. On précipite du liquide une trace de chaux par l'acide oxalique, on sature l'alcool par l'acide chlorhydrique et on évapore dans le vide sur la chaux éteinte. On obtient ainsi les chlorhydrates des bases cherchées.

Pour séparer les ptomaïnes qui peuvent être à plusieurs dans le résidu, on utilise la propriété qu'ont certaines de précipiter par le chlorure mercurique, d'autres de donner des chloro-platinates et chloraurates peu solubles ou insolubles et cristallisables, de distiller en présence de magnésie pour les ptomaïnes volatiles.

Le résidu calcaire d'où l'alcool à 83° a extrait des bases libres peut en contenir de non solubilisées. On l'acidule faiblement d'acide oxalique et on le reprend par l'eau bouillante. On neutralise par quelques gouttes d'eau de chaux, on filtre et on évapore ; les bases peu solubles dans l'alcool restent comme résidu.

(1) Armand Gautier, Cours de chimie ; t. III, Chimie biologique, p. 262.

Les ptomaïnes se présentent généralement sous la forme de liquides huileux ; quelques-unes sont solides. Elles s'unissent aux acides en donnant des sels cristallisables. Elles précipitent par l'acide picrique et les réactifs généraux des alcaloïdes. La plupart se dissolvent bien dans l'eau, médiocrement dans l'alcool, mal dans la benzine et le chloroforme. Elles ont souvent sur l'économie des effets toxiques bien marqués, variables toutefois d'une ptomaïne à une autre. On en connaît un assez grand nombre ; quelques détails seront donnés en étudiant les espèces bactériennes intéressantes à ce point de vue.

Recherche des toxines.

Autant que possible, les cultures sur lesquelles on veut opérer doivent être faites sur un milieu dépourvu de matières albuminoïdes ou de peptones, pour éviter la présence de substances protéiques difficiles à séparer des toxines. C'est ici que les milieux minéraux peuvent rendre beaucoup de services ; malheureusement, beaucoup d'espèces, des pathogènes surtout, n'y végètent pas bien.

Les liquides de culture, filtrés sur bougies Chamberland, sont traités par un grand excès d'alcool à 95°, de quinze à vingt fois leur volume. On laisse en contact douze à quinze jours à l'obscurité ; on filtre pour séparer les substances albuminoïdes insolubilisées. Avant de traiter par l'alcool, il y a intérêt, pour raison d'économie, à évaporer le liquide dans le vide à 30°; on use ainsi beaucoup moins d'alcool. On dessèche le résidu dans le vide en présence d'acide sulfurique ; on le pulvérise finement et on épuise par l'eau distillée froide ; la toxalbumine se dissout dans l'eau. On peut la précipiter par l'alcool de sa solution. Comme ces précipitations affaiblissent toujours l'activité de telles substances, il vaut mieux faire les essais physiologiques avec la solution aqueuse obtenue comme il a été indiqué ci-dessus.

Ces toxines, telles qu'on les connaît actuellement, sont des corps amorphes, blancs ou jaunâtres, sans odeur ni saveur, très solubles dans l'eau d'où les entraînent cependant les précipités gélatineux d'alumine et de phosphate de chaux, insolubles dans l'alcool fort, l'éther, le chloroforme, sans odeur ni saveur. En présence de l'eau, elles s'altèrent lorsqu'on les chauffe vers 65°; à sec, elles supportent mieux la chaleur.

L'inoculation aux animaux des produits de culture débarrassés de microbes peut aussi renseigner sur la présence de produits actifs.

L'inoculation à un cobaye tuberculeux peut faire reconnaître la présence de tuberculine dans un liquide pathologique où l'examen microscopique ne révèle pas la présence de Bacilles tuberculeux.

Les *antitoxines* se rapprochent des toxalbumines au point de vue chimique. C'est par la méthode qui vient d'être décrite que Guérin et Macé (1) ont pu extraire une substance antitoxique du sérum de cheval immunisé à l'égard de la diphtérie. Ces toxines et antitoxines sont bien voisines des diastases comme propriétés.

(1) Guérin et Macé, Sur l'antitoxine diphtérique (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 5 août 1895).

Recherche des matières colorantes.

Suivant la nature et la solubilité du pigment, on emploie l'un ou l'autre des dissolvants indiqués précédemment (p. 127). Pour être certain d'opérer sur un produit pur, il serait nécessaire de l'avoir cristallisé ; on n'obtient que très rarement ce résultat avec les pigments microbiens, et encore parfois doit-on avoir affaire à des produits cristallisés de nature diverse, tyrosine, sels organiques ou minéraux, imprégnés seulement de la véritable matière colorante.

Le spectroscope rend ici de véritables services ; mais ces recherches d'analyse spectrale sont encore trop peu avancées pour qu'on puisse en tirer quelques indications générales.

Recherche des gaz.

Il est utile d'employer ici des dispositifs spéciaux de culture qui permettent de recueillir facilement les gaz produits d'habitude en petites quantités, tout en agissant sur peu de milieu. Les vases de cultures

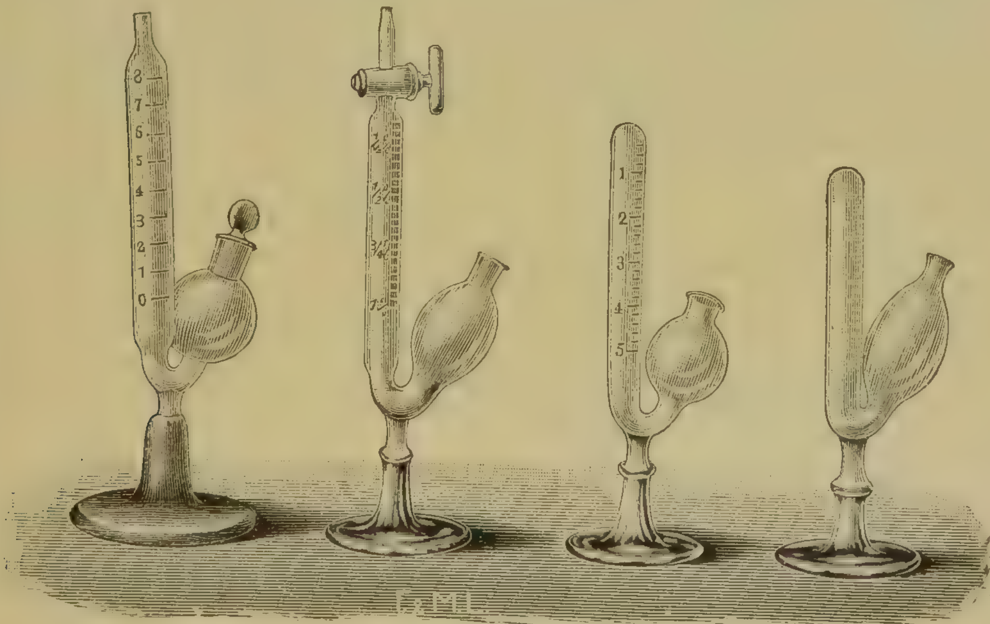


Fig. 138. — Tubes de fermentation d'Einhorn.

représentés figure 138, permettent de le faire commodément. Le liquide de culture est disposé de façon à remplir complètement la branche montante; le gaz qui se dégage se ramasse au haut de cette branche, où sa quantité peut être évaluée et d'où il peut être soutiré avec les deux premiers appareils. Les procédés ordinaires d'analyse renseignent sur la nature du produit.

L'*azote* est dégagé en grande quantité de l'azotate de potasse par le *Bacille pyocyanique.*

De l'*oxygène* peut être dégagé par des espèces aérobies cultivées à l'abri de l'air.

Du *méthane* est produit surtout dans les fermentations des produits végétaux, surtout des celluloses.

L'*hydrogène* doit être fréquent, surtout dans les fermentations par réduction. C'est l'hydrogène à l'état naissant qui réagit secondairement sur le soufre du milieu pour donner de l'hydrogène sulfuré.

Recherche de l'hydrogène sulfuré.

Il est très fréquent dans les produits de la vie microbienne. On peut le reconnaître simplement à l'odeur. Il vaut mieux recourir aux réactifs chimiques ; le meilleur est l'acétate de plomb (1). On place dans le col du vase de culture une bande de papier à l'acétate de plomb et on ferme avec un bouchon de liège ou une feuille d'étain, mais pas de caoutchouc qui renferme souvent du soufre. Au contact de l'acide sulfhydrique et suivant sa proportion, le papier brunit plus ou moins ou peut même devenir noir ; lorsqu'il ne s'en forme que des traces, la réaction demande du temps pour apparaître. Une dissolution alcaline d'oxyde de plomb dans la potasse donne un papier plus sensible que l'acétate.

D'après Morris (2), il est préférable d'user de milieux de culture additionnés de petites quantités d'acétate de plomb, où les Bactéries croissent aussi bien que dans les milieux normaux. Le meilleur est la gélose peptonisée à laquelle on ajoute, avant stérilisation, 1 gramme d'acétate de plomb par litre ; la gélatine réussit moins bien ; le bouillon ne convient pas, tout le plomb s'y précipite. Le milieu brunit ou noircit plus ou moins vite, en commençant par la surface.

Toutefois, avant la mise en culture du microbe, les milieux doivent être essayés avec l'acétate de plomb, pour s'assurer qu'ils ne renferment pas de composés sulfurés pouvant réagir.

Espèces produisant de l'hydrogène sulfuré (Morris).

Bacille typhique	En un jour.
Spirille du choléra	—
Bacille du rhinosclérome	—
Staphylocoque pyogène doré	—
Proteus vulgaris	—
Colibacille	En deux jours.
Bacille de la morve	—
Proteus mirabilis	—
Bacille fluorescent non liquéfiant	—
Vibrion de Metschnikoff	—
Bacille du Schweinseuche	—
Bacillus megaterium	—
Bacille pyocyanique	En trois jours.
Vibrio aquatilis de Günther	—
Vibrion de Dunbar	—
Bacille de la Swine-plague	En quatre jours.
Bacillus typhi murium	—
Bacillus capsulatus de Pfeiffer	—
Vibrion de Dencke	—
Bacillus Zopfii	En six jours.

(1) Petri et Maassen, Beiträge zur Biologie der Krankheitserregenden Bakterien im besondere über die Bildung von Schwefelwasserstoff durch dieselben unter vornehmlicher Berücksichtigung des Schweiner-rothtaufs (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, VIII, 1893, p. 318).

(2) Morris, Studien über die Produktion von Schwefelwasserstoff, Indol und Merkaptan bei Bakterien (*Arch. für Hygiene*, XXX, 1897, p. 304).

Actinomyces	En huit jours.
Spirille de Finckler	En neuf jours.
Bacille fluorescent liquéfiant	En dix jours.
Bacille du choléra des poules	En douze jours.
Vibrion de Weibel	En seize jours.
Spirillum concentricum	En dix-sept jours.
Bacille du lait bleu (faiblement)	En trente jours.
Micrococcus prodigiosus (faiblement)	—
Bacille rouge de Globig (faiblement)	—

Ces résultats peuvent naturellement varier suivant certaines conditions du milieu. C'est la raison pour laquelle Petri et Maassen ont parfois énoncé des résultats différents.

Recherche de l'ammoniaque.

Beaucoup d'espèces en donnent. On peut la reconnaître à l'odeur, à l'emploi du papier de tournesol ou de curcuma humides, ou user de la propriété de donner des vapeurs blanches avec une baguette de verre imprégnée d'acide acétique cristallisable. Les amines réagissent de même. Il vaut mieux se servir du *réactif de Nessler* qui donne, avec les milieux contenant de l'ammoniaque, une coloration allant du jaune au brun rouge suivant la proportion; il est alors nécessaire d'agir sur des milieux incolores, comme les milieux minéraux.

Recherche des nitrites.

On les recherche dans des milieux additionnés préalablement d'un peu de nitrate de potasse; les cultures doivent rester quelques jours à l'étuve. On peut employer l'empois d'amidon très faible additionné de $0^{gr},5$ p. 100 d'iodure de potassium et quelques gouttes d'acide sulfurique; s'il y a des nitrites, il se produit une coloration bleu noir ou violacée. La réaction de la métaphénylènediamine est plus sensible; on ajoute un peu de solution du produit et quelques gouttes d'acide sulfurique étendu : s'il y a des nitrites, on observe une coloration brun jaune.

Le procédé de Pichard est extrêmement sensible : une goutte de solution de nitrite est mélangée sur une assiette blanche avec une goutte d'acide chlorhydrique pur, puis on ajoute un fragment de brucine; après cinq minutes au plus, on obtient une coloration allant du rouge-vermillon au jaune clair. Dans les mêmes conditions, l'acide chlorhydrique ne donne rien avec les nitrates.

Le procédé de Schuyten (1), bien moins sensible que le précédent, peut également être employé : mélanger 5 centimètres cubes d'une solution à 1 p. 100 d'antipyrine dans de l'acide acétique dilué à 10 p. 100 à un égal volume de liquide à examiner ; s'il renferme des nitrites, il se produit une coloration verte dans l'espace d'une minute.

Recherche de la triméthylamine.

Le réactif de Nessler donne, surtout lorsqu'il y a un excès d'amine, un précipité blanc brunissant assez rapidement. Le papier rouge de tourne-

(1) Schuyten, *Chem. Zeit.*, 1896, p. 722.

sol et celui de curcuma humides se comportent comme avec l'ammoniaque.

Recherche de la leucine et de la tyrosine.

La leucine se reconnaît, à l'examen microscopique, à ses sphéro-cristaux ou aux masses globulaires caractéristiques.

Pour rechercher la tyrosine, le dépôt est traité, sous la lamelle, au microscope, par un peu d'acide chlorhydrique concentré ; la tyrosine se dispose en aiguilles groupées en faisceaux ou en étoiles dont l'aspect est caractéristique.

Recherche des acides organiques.

Tous sont solubles dans l'éther. Acidifier le liquide avec de l'acide sulfurique pur, et agiter avec plusieurs volumes d'éther pur. L'éther, décanté et filtré, est évaporé à l'air après addition de quelques gouttes d'eau. Après essai au perchlorure de fer, on transforme en sels de zinc, plomb ou chaux, et on suit les méthodes d'analyse ordinaire.

L'acide butyrique se reconnaît en ajoutant quelques gouttes d'alcool éthylique, un peu d'acide sulfurique et chauffant ; il se produit de l'éther butyrique à odeur de fraises.

Recherche de l'alcool et de l'aldéhyde.

C'est surtout l'alcool éthylique que l'on peut avoir en vue. On fait une distillation préalable. Le distillat, additionné d'une solution aqueuse d'iode à 10 p. 100 avec quantité suffisante d'iodure de potassium, et d'un excès de lessive de soude, donne, après quelques instants, un précipité jaune clair, formé de cristaux étoilés hexagonaux d'iodoforme, à odeur bien spéciale.

L'aldéhyde et l'acétone donnent cette même réaction, mais instantanément.

Pour déceler l'aldéhyde, on emploie une solution aqueuse de fuchsine décolorée par l'anhydride sulfureux. On agite parties égales de solution et de liquide à examiner ; s'il y a de l'aldéhyde, on observe une coloration rouge.

Recherche des mercaptans.

On traite par un peu d'éther, qui est décanté puis évaporé. Les mercaptans se reconnaissent à leur odeur alliacée spéciale et à la couleur des précipités qu'ils forment avec les sels métalliques.

Recherche de l'indol.

La présence de l'indol peut servir à la diagnose d'espèces difficiles à distinguer. Elle se constate facilement à l'aide de la méthode suivante : on prend du liquide de culture de l'espèce que l'on étudie et on ajoute approximativement par 10 centimètres cubes un centimètre cube d'une solution de nitrite de potassium à 2 centigrammes pour 100 grammes d'eau, puis on traite par quelques gouttes d'acide sulfurique ou chlorhydrique purs ; s'il y a de l'indol, le liquide se colore en rose ou en

rouge foncé. Kitasato (1) a le premier cherché à en faire un caractère pouvant servir à la diagnose. Depuis, d'autres observations ont permis de dresser les tableaux suivants :

Cultures présentant la réaction de l'indol.

Spirille du choléra.
Spirille de Finckler (peu).
Spirillum de Metschnikoff.
Spirillum Danubicum.
Spirillum berolinensis.
Spirillum albensis.
Spirillum rubrum (traces).
Bactérie du choléra des poules.
Bacille de la septicémie hémorragique de Hueppe (beaucoup).
Bacille de la septicémie du lapin.
Bacille du choléra du porc.
Bacille du tétanos (peu).
Bacille du charbon symptomatique.
Vibrion septique.
Bacille de la diphtérie.
Bacille lactique.
Colibacille (beaucoup).
Bacille lactique de Hueppe (peu).
Pneumobacille de Friedlaender (rare et peu).
Sarcina lutea (traces).
Sarcina aurantiaca (traces).
Micrococcus tetragenus.
Staphylocoque pyogène doré (peu).
Bacille de la morve (traces).
Bacillus Zopfii (rare et peu).
Proteus vulgaris (beaucoup).
Micrococcus prodigiosus (traces).
Bacillus janthinus (peu).
Bacille du lait bleu (traces).

Cultures ne donnant pas la réaction de l'indol.

Bacille typhique.
Bacillus lactis aerogenes.
Bacille de la septicémie de la souris (2).
Bacille du rouget de porc.
Bacille de la peste porcine.
Bacille du charbon.
Bacille de la tuberculose.
Pneumocoque.
Streptocoque pyogène.
Bacille pyocyanique.
Bacille fluorescent liquéfiant.
Bacille fluorescent non liquéfiant.
Bacillus violaceus.
Bacille phosphorescent.
Bacille butyrique.
Spirillum concentricum.
Micrococcus candicans.
Bacillus megaterium.
Bacillus mesentericus vulgatus.
Bacillus mesentericus ruber.
Spirillum aquatile (Günther).
Bacillus mycoides.
Bacillus subtilis.

Cette réaction de l'indol doit être recherchée de préférence dans les bouillons peptonisés; il faut éviter, dans les milieux, la présence de sucres qui nuit à la production de l'indol ou l'entrave complètement. La coloration peut être très nette ou très faible, incertaine; on peut, dans ce cas, agiter avec une petite quantité d'alcool amylique qui se teint alors en rose et montre la nuance bien nette après repos. Lorsqu'il y a des nitrites dans le milieu, surtout lorsqu'on a affaire à des microbes réduisant les nitrates, dont une minime quantité existe toujours dans les divers milieux, la coloration rouge se produit par la seule addition d'acide; cette réaction s'observe en particulier avec le *Spirille du choléra* et est connue ici sous le nom de *réaction du rouge de choléra*.

(1) Kitasato, *Zeitschr. für Hygiene*, VII, 1889, p. 515.
(2) D'après Morris, Studien über die Produktion von Schwefelwasserstoff, Indol und Merkaptan bei Bakterien (*Arch. für Hygiene*, XXX, 1897, p. 304).

RECHERCHE DES PHÉNOLS.

Il faut aussi employer, comme milieux, les bouillons sans sucres. On traite le liquide par une cinquième de son volume d'acide chlorhydrique et on distille. Le distillat, neutralisé par le carbonate de chaux, donne, s'il y a des phénols, une belle couleur violette avec du perchlorure de fer neutre très étendu. On ne trouve, en général, que très peu de ces corps, par exemple dans de vieilles cultures de *Colibacille* ou de *Proteus vulgaris*.

8. Conservation des cultures.

Il peut être très utile ou avantageux de conserver aisément des cultures intéressantes par leur forme ou leur aspect, ou d'établir une sorte de musée de cultures pouvant être d'un haut intérêt pour la pratique ou l'enseignement. Les meilleurs résultats à ce point de vue obtenus jusqu'ici sont dus à l'emploi de solutions d'aldéhyde formique ou formol. Le formol a la propriété d'insolubiliser et de durcir certains milieux, la gélatine en particulier, en lui conservant son aspect et sa transparence. Nous savons en outre qu'il possède des propriétés antiseptiques. En soumettant des cultures sur gélatine pendant quelque temps aux vapeurs du formol sous une cloche, ou en les plongeant dans une solution aqueuse faible (4 à 10 p. 100) de ce produit, la culture est immobilisée dans son aspect qu'elle conserve pour ainsi dire indéfiniment si on prend soin de s'opposer à toute évaporation par un bouchage parfait du vase (1).

Pour des cultures sur gélatine comme celles du *Bacille du charbon* au début, du *Bacille typhique*, il suffit de verser dans le tube, au-dessus de la gelée, une dizaine de centimètres cubes de formol à 4 p. 100 et de fermer avec un bon bouchon que l'on paraffine, pour pouvoir les conserver indéfiniment avec leur aspect caractéristique primitif.

La modification de la gélatine est si profonde, lorsqu'elle a subi assez longtemps l'action du formol, qu'on n'arrive plus à la liquéfier même dans la flamme d'un bec de Bunsen ou en la faisant bouillir dans la lessive de soude.

Les cultures sur gélose, sur pomme de terre, se conservent aussi très bien de la même manière.

Souvent la solution de formol n'altère en rien l'aspect de la culture; parfois la teinte seule change un peu. D'autres fois, pour les microbes chromogènes principalement, le liquide dissout une petite quantité de pigment et peut légèrement modifier la coloration de la colonie.

Pour les Bactéries liquéfiantes, il faut naturellement n'user que des vapeurs de formol. Les tubes de culture sont placés, débouchés, sous une cloche avec un récipient contenant une certaine quantité d'une solution concentrée de formol (40 p. 100); on les laisse quelques jours exposés au réactif. Il en est de même pour les Bactéries chromogènes dont la solution de formol modifie les pigments.

En vapeurs, Miquel (2) préfère user du trioxyméthylène, polymère de

(1) HAUSER, Weitere Mittheilungen über Verwendung des Formalins zur Konservievung von Bakterienkulturen (*Münch. med. Wochenschr.*, 1893, n° 35).

(2) MIQUEL, De l'immobilisation des cultures sur les milieux solides au moyen des vapeurs de trioxyméthylène (*Ann. de micr.*, VI, 1894, p. 422).

l'aldéhyde formique, que l'on mélange avec une solution concentrée de chlorure de calcium ; on obtient ainsi une pâte liquide qui dégage de fortes proportions du formol.

Il est très commode de mettre un peu de trioxyméthylène au fond d'un gros tube à essai dans lequel on place le tube de culture simplement bouché à l'ouate ; les vapeurs d'aldéhyde formique qui se dégagent suffisent pour assurer la conservation.

III. — EXPÉRIMENTATION SUR LES ANIMAUX.

Le complément indispensable de toute étude d'une espèce quelconque déterminée est la recherche de l'action qu'elle peut avoir sur l'organisme animal, pour en tirer ensuite, par déduction ou par d'autres expériences, des conclusions dont on conçoit la haute portée hygiénique. L'importance de cette condition est plus évidente encore pour les Bactéries pathogènes, où elle doit fournir le seul signe absolu, le seul critérium indéniable de la relation de cause à effet qui existe entre le parasite et la maladie. Enfin, l'organisme animal semble posséder une sorte d'affinité pour certaines espèces auxquelles il offre, dans un mélange, un terrain particulièrement favorable, au détriment des autres. Il se fait ainsi une sorte de triage ; l'espèce donnée prédomine bientôt et finit par l'emporter complètement ; les autres, inoculées avec elle, bien qu'en proportions souvent même plus fortes, disparaissent, étouffées par la luxuriante végétation de la première. A ce moment, l'organisme infecté offre tous les caractères d'une véritable culture pure ; il servira aux mêmes usages et, en particulier, fournira une semence véritablement pure.

Cette méthode de culture naturelle est toute de Pasteur. Elle l'a conduit au début à la découverte d'une espèce redoutable, le *Bacillus septicus*, son *Vibrion septique* (1). En inoculant sous la peau d'un cobaye ou d'un lapin une petite quantité de terre végétale, qui contient un grand nombre d'espèces très différentes, la première arrive vite à occuper seule le terrain, y pullule et y détermine des troubles si profonds que l'animal succombe en présentant les symptômes caractéristiques de la *septicémie de Pasteur*. C'est un moyen journellement employé dans la pratique de laboratoire pour obtenir des cultures pures de la *Bactérie du charbon*. En inoculant du sang *non putréfié*, où cette espèce est mêlée à d'autres, l'animal meurt du charbon typique ; son sang, recueilli avec les précautions voulues pour ne pas introduire de germes du dehors, ne contient que du *Bacillus anthracis* et en donne des cultures très pures. On ne trouve aucune trace des autres Bactéries du mélange primitif. En mettant à profit ces résultats, Koch (2) est arrivé à isoler, de liquides putréfiés divers, d'autres espèces également fort intéressantes, occasionnant chez les animaux d'expériences des variétés de septicémie, surtout curieuses et instructives en ce sens que, très dangereuses pour l'animal qui les présente, elles le sont beaucoup moins, parfois même

(1) Pasteur, Sur le Vibrion septique (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1877).

(2) Koch, Untersuchungen über die Ætiologie der Wundinfectionkrankheiten, 1878. — Zur Untersuchungen von pathogenen Organismen (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881).

pas du tout, pour d'autres espèces animales. La différence d'action peut même être considérable entre deux espèces aussi voisines que le sont la souris des champs et la souris de nos maisons. La première en effet se montre complètement réfractaire à l'inoculation du *Bacillus murisepticus* de Koch, qui détermine chez la seconde une septicémie à marche particulière et promptement mortelle. De même, en inoculant à des lapins du sang putréfié d'autres lapins morts du charbon, Charrin (1) a pu obtenir un *Micrococcus* spécial tuant l'animal en peu d'heures, avant que le *Bacille du charbon* eût pu manifester son action pathogène.

Pour les trois raisons énoncées au début, l'expérimentation sur l'animal vivant joue en Bactériologie un rôle très important. Il nous faut donc poser les règles à suivre en pareil cas. Nous passerons en revue successivement les principes qui doivent guider dans le choix de l'animal sur lequel on veut expérimenter, les méthodes de contention qui permettent d'opérer aisément, la technique des inoculations expérimentales, la manière de pratiquer l'autopsie s'il y a lieu et la discussion des faits observés ; enfin nous croyons devoir dire quelques mots, en dernier lieu, sur l'expérimentation *in animâ nobili*, sur l'homme lui-même, qui tend à se répandre dans la pratique des laboratoires.

1° Choix de l'animal.

Le choix de l'animal importe peu, à condition cependant de le faire parmi les espèces pouvant être influencées par l'agent infectieux s'il s'agit de Bactéries pathogènes. On fait en général usage de Mammifères. Les lapins, les cobayes, les rats et les différentes espèces de souris sont ceux dont on se sert le plus. Le chien est réfractaire à bien des maladies bactériennes; c'est une raison pour laquelle on ne s'en servira que rarement ; le chat est trop méchant, l'expérimentateur doit s'en méfier. Les plus grands animaux sont réservés pour des cas tout spéciaux, à cause surtout de l'embarras et de la dépense qu'ils occasionnent.

Les oiseaux servent encore souvent ; dans ce cas, c'est à la poule, au pigeon ou au moineau que l'on s'adresse le plus volontiers à cause de la facilité de se les procurer. Il faut ici tenir compte des modifications que peut apporter leur température plus élevée que celle des Mammifères ; cette différence peut faire changer les conditions d'expérience, comme nous l'avons déjà vu pour le charbon (p. 95).

Les Vertébrés à sang froid sont dans des conditions moins favorables encore pour ces expérimentations, à cause de leur basse température d'abord. Il est souvent possible de les porter à des températures eugénésiques pour les Bactéries, mais ils supportent souvent très mal ces conditions de chaleur; l'expérience peut ainsi se trouver faussée. Les grenouilles, que Gibier dit mourir en deux jours à 37° après une inoculation charbonneuse, périssent souvent en moins de temps à l'étuve à 37° sans aucune intervention. La *Rana temporaria* résisterait moins à la chaleur que sa congénère, la *Rana esculenta*, qui pourrait vivre des semaines à 37°. Les conditions de température ne sont pas les seules qui influent sur le sort des infections expérimentales chez ces Vertébrés à

(1) Charrin, Septicémie consécutive au charbon (*Soc. de Biol.*, 2 août 1884).

sang froid ; Cuénot (1) et Mesnil (2) ont montré que le rôle principal dans la résistance dont ils paraissent jouir à l'égard de beaucoup d'infections devait revenir aux processus de phagocytose excessivement actifs qui se passent dans leur organisme. Les grenouilles toutefois résistent aux inoculations même massives de toxines virulentes, la toxine diphtérique par exemple. Ici, la phagocytose ne paraît pas intervenir ; leurs humeurs ne m'ont pas cependant paru renfermer de substance antitoxique.

En multipliant les inoculations sur des espèces variées, on court la chance d'avoir à signaler chez quelques-unes des particularités intéressantes, qui pourront permettre de caractériser plus sûrement la Bactérie étudiée.

Les animaux en expérience doivent être éloignés de toute source de contagion, qui pourrait venir fausser les résultats acquis. Aussi ne saurait-on trop recommander de tenir les animaux sains loin de ceux inoculés et de ne jamais pratiquer d'inoculations dans le local où sont manipulés les cultures et les animaux qui ont succombé. C'est en omettant ces précautions que plusieurs expérimentateurs se sont exposés à des mécomptes. C'est en particulier pour s'être exposé à une contamination si facile, que Büchner en a été conduit à proclamer l'identité du *Bacillus anthracis* et du *Bacillus subtilis*, que la forme et l'aspect peuvent faire considérer comme similaires, mais que l'action sur les animaux, entre autres caractères, différencie si facilement ; le premier est en effet parfaitement supporté par l'organisme, même à doses massives, tandis que la moindre quantité de l'autre détermine une affection charbonneuse toujours grave.

Il va sans dire que les animaux en expérience doivent être préservés de toute cause d'infection étrangère. Le local est tout particulièrement à surveiller ; s'il se présentait des cas de septicémie, il serait désinfecté avec soin avant de s'en servir à nouveau. L'emploi de vases en verre pour les souris est à rejeter ; il est préférable de les maintenir dans de petites cages en toile métallique ou en fil de fer qui sont, pour les souris de maison surtout, redoutant l'humidité, un logement infiniment plus sain. Ces cages sont en outre facilement désinfectées par la chaleur dans l'étuve à air chaud.

2° Contention de l'animal.

L'animal choisi, il faut le maintenir. L'opération se fait facilement avec les espèces employées, de caractère doux et inoffensif. Les lapins et les cobayes seront simplement tenus par un aide, comme l'indique la figure 139, ou tout autrement. Il suffit souvent d'envelopper la tête du cobaye dans une serviette pour le faire rester tranquille quelque temps. Pour une opération assez difficile et un peu longue, il est bien préférable de se servir d'appareils de contention permettant d'immobiliser le sujet d'une façon très complète, et surtout de faire varier à volonté la

(1) Cuénot, Études sur le sang et les glandes lymphatiques dans la série animale (*Arch. de zool. expér.*, 1891).

(2) Mesnil, Sur le mode de résistance des Vertébrés inférieurs aux invasions microbiennes artificielles (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V, 1895, p. 301).

disposition des différentes parties du corps, en rapport avec l'opération à exécuter. L'appareil de Czermak (fig. 140), celui de Malassez (1), celui de Latapie (2), répondent très bien aux conditions requises : ce dernier,



Fig. 139. — Contention simple du lapin par les deux mains d'un seul aide.

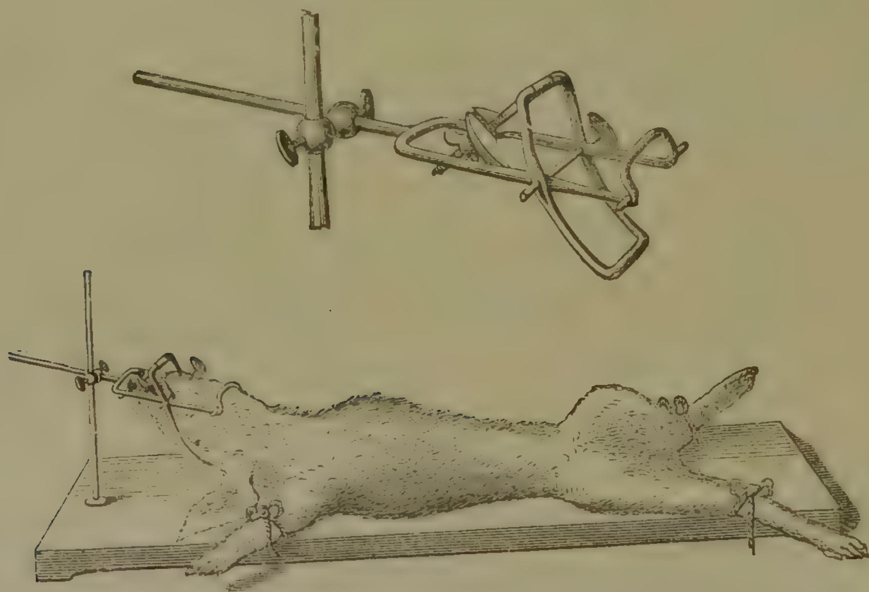


Fig. 140. — Appareil de Czermak. La figure supérieure donne des détails de l'appareil. La figure inférieure montre un lapin immobilisé.

en particulier, peut servir à la fois pour le lapin, le cobaye, la poule, le pigeon, en faisant varier les dispositifs mobiles qui maintiennent la tête et les pattes postérieures.

(1) Malassez, *Arch. de méd. expér.*, III, 1891, p. 396.
(2) Latapie, Nouvel appareil à contention pour animaux d'expérience (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 668).

Le dispositif représenté figure 141, est des plus commodes pour les cobayes et les rats. La figure montre sa composition et son maniement.

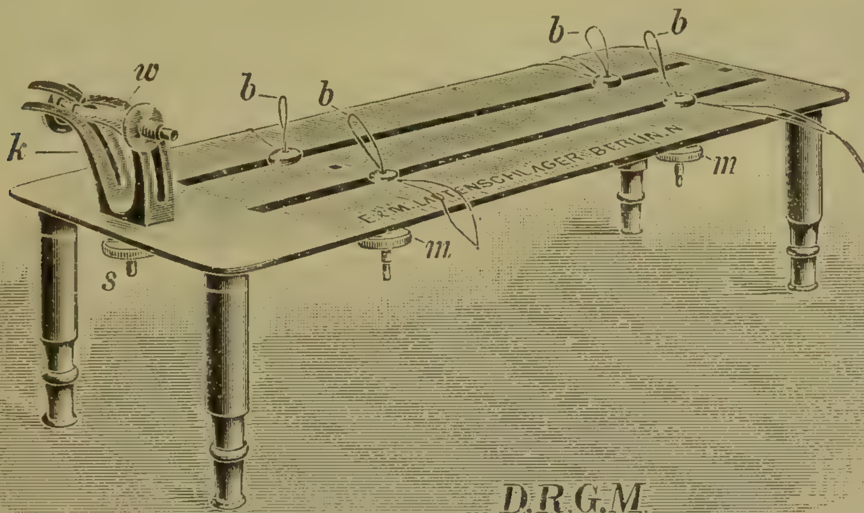


Fig. 141. — Appareil de contention de Piorkowski.

Les rats sont assez à craindre; les grosses espèces sont méchantes et possèdent des crocs assez redoutables.

Les souris sont d'un emploi plus facile. Les différentes espèces qui peuvent servir, souris de maisons, souris de champs, souris blanches, sont toutes d'humeur fort paisible. Pour les petites opérations, les inoculations que l'on fait à la base de la queue, par exemple, il suffit de les placer, la tête en bas, dans un petit flacon de verre à large ouverture. Leurs pattes glissant sur la surface polie, il leur est impossible de prendre un point d'appui pour se retourner; on peut d'ailleurs recouvrir le bocal en partie avec un couvercle, de manière à ne laisser dépasser que la partie du corps qui doit servir. On les maintient complètement immobiles, lorsque cela est nécessaire, en les tenant en outre par la nuque à l'aide d'une pince. On peut encore les placer dans une cage à barreaux assez écartés, attirer et maintenir la queue à l'extérieur pour agir sur le train postérieur de l'animal.

On trouvera de plus amples détails sur les moyens de disposer les animaux pour les expériences et de les mener à bonne fin, dans les livres spéciaux de physiologie opératoire, en particulier dans les traités de Cl. Bernard et de Livon (1).

Pour les opérations un peu délicates, on a souvent grand avantage à recourir à l'anesthésie. La souris s'anesthésie rapidement en la plaçant sous un verre avec un tampon d'ouate imbibé de quelques gouttes d'éther ou de choroforme. On anesthésie les cobayes, lapins, chiens, en leur plaçant sous le nez une éponge imbibée d'un peu de chloroforme.

(1) Cl. Bernard, Leçons de physiologie opératoire. Paris, J.-B. Baillière, 1879. — Livon, Manuel de vivisections. Paris, J.-B. Baillière, 1882.

3° Inoculations.

On arrive de plusieurs manières à mettre les Bactéries, dont on veut étudier l'action, en contact plus ou moins direct avec l'organisme. Il faut, si l'on ne veut pas essayer toutes les *méthodes d'inoculation*, faire un choix parmi les principales, en se guidant sur les conditions particulières d'existence de l'espèce infectieuse étudiée, lorsqu'on en connaît quelques-unes. La *matière d'inoculation* doit être placée à portée de la voie qu'elle doit suivre pour se répandre dans l'organisme.

Les précautions à prendre pour l'inoculation sont les mêmes que celles conseillées pour l'ensemencement des cultures pures dans les milieux nutritifs; l'expérimentation sur l'animal est une véritable culture dans un milieu vivant. Il faut éviter l'apport de germes étrangers venant de l'air, de la surface du corps de l'animal, de ses organes internes, et enfin de la matière d'inoculation ou des instruments qui servent à l'introduire. La contamination par l'air n'est guère à craindre, car, outre qu'il ne montre presque jamais de germes pathogènes, l'inoculation proprement dite dure si peu de temps qu'aucune erreur n'est possible. On peut, du reste, se mettre dans les meilleures conditions en opérant dans un endroit tranquille, loin des courants d'air, où l'atmosphère a laissé déposer ses poussières et aussi les Bactéries qu'elle tenait en suspens. Il existe normalement chez l'homme et les animaux, à la surface de la peau ou des muqueuses, de nombreuses Bactéries, dont quelques-unes ont une action pathogène bien démontrée. Aussi faut-il s'efforcer d'en débarrasser les téguments à la place où l'on doit opérer. Pour ce faire, on lave d'abord fortement la peau au savon, puis à une solution de sublimé à 1 p. 1000; on rince plusieurs fois à l'alcool et en dernier lieu à l'éther, dont l'évaporation se fait beaucoup plus rapidement. Lorsque la peau est couverte de poils, on les coupe à l'avance avec des ciseaux courbes, ou mieux on les rase exactement. Il peut être plus commode de brûler la peau au fer rouge dans une certaine étendue; la brûlure doit être assez profonde et intéresser le derme.

L'animal d'expérience devra tout naturellement être absolument sain; on doit écarter systématiquement ceux qui pourraient présenter le moindre symptôme morbide.

Enfin, il faut éviter d'apporter, avec la substance d'inoculation, des germes autres que ceux à étudier. Ce résultat est obtenu en prenant la matière dans des cultures d'une pureté reconnue et en n'utilisant que des instruments stérilisés en toute assurance. Cette stérilisation des instruments s'obtient facilement en les soumettant aux procédés habituels (Voy. p. 196 et suiv.) (1). Les instruments d'acier seront chauffés une heure à 150° dans une étuve à air chaud, enfermés dans une boîte de métal ou dans une grosse éprouvette de verre de Bohême fermée par un tampon de coton, ou mis à bouillir pendant un quart d'heure à une demi-heure dans de l'eau pure ou additionnée d'un peu de borax ou de carbonate de soude. Pour les instruments de petit volume et que l'on ne craint pas de détériorer, on peut simplement recourir au flambage dans la flamme d'un bec de gaz ou d'une lampe à alcool. Le

(1) Voy. : Vinay, Manuel d'asepsie. Paris, J.-B. Baillière, 1890.

modèle d'étuve représenté figure 142 est construit spécialement pour la stérilisation des appareils de métal et des instruments de chirurgie ; le stérilisateur à air chaud décrit plus haut remplit du reste le même but. Les appareils plus délicats, ceux où entre du caoutchouc, seront mis un temps égal dans le stérilisateur à vapeur ou mieux dans l'autoclave à 120°. Pour certains, on doit recourir à la stérilisation chimique obtenue en les faisant macérer longtemps dans des antiseptiques énergiques, la solution de sublimé corrosif, une solution concentrée d'acide phénique, de formol.

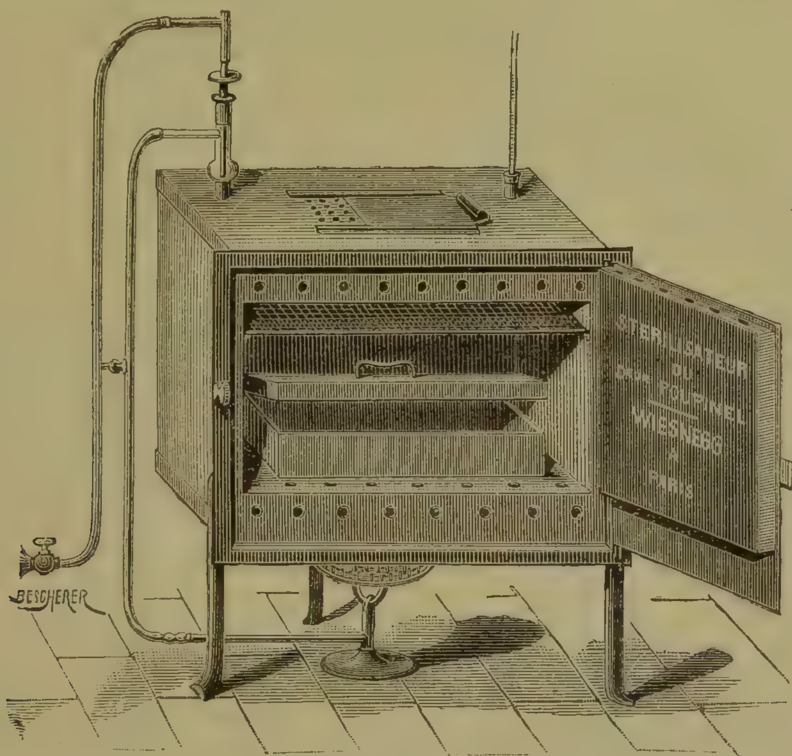


Fig. 142. — Stérilisateur du Dr Poupinel.

Un lavage à l'alcool fort les débarrasse du réactif lorsqu'il gêne. Un long séjour dans l'alcool absolu peut suffire et rendre dans bien des cas d'excellents services. Cependant, il faut toujours se défier de la stérilisation par ces antiseptiques.

1° *Instruments.*

Les instruments nécessaires à ces opérations sont tout d'abord les scalpels, pinces et ciseaux qui servent couramment pour toutes les opérations chirurgicales. Il est à recommander de prendre de préférence des scalpels entièrement métalliques ; leur stérilisation est plus assurée. De simples aiguilles peuvent très bien suffire pour certaines inoculations ; pour le charbon, on peut simplement tremper une aiguille dans du produit virulent et faire à son aide une simple piqûre. On peut encore, à l'aide d'un fil de platine chargé, déposer une petite quantité de virus à la surface d'une petite incision ou d'une petite plaie superficielle.

Les petites pipettes de verre étiré, telles que celles figurées figure 129, p. 249, rendent de très bons services. On peut en avoir une provision

stérilisée d'avance et à pointe fermée. La pointe est brisée puis flambée légèrement ; en aspirant par la grosse extrémité munie d'un tampon d'ouate, on y fait entrer la quantité voulue de liquide à inoculer. On fait ensuite pénétrer la pointe dans le tissu ou la cavité où l'on veut faire l'inoculation et on chasse le contenu en soufflant par l'extrémité opposée.

L'instrument le plus commode pour la pratique des inoculations est sans contredit la *seringue*. Comme il doit être facile de pouvoir stériliser sûrement et souvent les seringues dont on doit faire usage, il faut choisir des modèles qui résistent aux procédés employés. Les seringues à piston de cuir, du type de la seringue de Pravaz, ne peuvent pas servir ; sous l'influence de la chaleur, le piston se racornit et devient vite inutilisable, s'il ne l'est pas d'emblée. Depuis quelques années, on a imaginé de nombreux modèles de seringues qui puissent supporter facilement les procédés de stérilisation par l'eau ou la vapeur ; nous ne pouvons citer que les principaux.

La *seringue de Koch* se compose d'un cylindre de verre gradué qui peut recevoir à une extrémité l'aiguille trocart de la seringue de Pravaz ; à l'autre extrémité se trouve un ajutage métallique à robinet auquel s'adapte une poire en caoutchouc. Le cylindre est stérilisé à l'autoclave ou à l'eau bouillante avec sa canule ; la poire sert à aspirer et à chasser le liquide à inoculer.

La *seringue de Straus*, que construit Collin, est un des modèles les plus recommandables. C'est une seringue analogue à celle de Pravaz, dont le piston est en moelle de sureau. La moelle de sureau supporte parfaitement la chaleur humide ; quand elle a été quelque peu comprimée, elle se gonfle et fait fermeture complète. Le piston se compose d'un disque de moelle de sureau de 1 centimètre de hauteur, disque serré par un petit écrou qui termine le piston. Il est facile de fabriquer soi-même de nouveaux pistons avec de la moelle de sureau bien souple et bien homogène, que l'on tasse entre deux doigts. Deux rondelles de moelle de sureau sont interposées entre les deux extrémités du cylindre de verre et l'armature métallique et assurent la fermeture parfaite de l'instrument.

La *seringue de Debove* (fig. 143), construite par Galante, a son piston et ses rondelles en amiante, supportant, par conséquent, aussi très bien la stérilisation. Elle est d'un démontage très facile. La contenance varie de 2 à 20 centimètres cubes, suivant le modèle.

La *seringue de Roux* a le piston et les rondelles en caoutchouc, résistant bien à la stérilisation et faciles du reste à remplacer.

Lüer construit une seringue tout en verre, formée d'un corps de seringue gradué à l'extrémité duquel s'adapte l'aiguille. Le piston est formé d'un cylindre de verre qui glisse à frottement dans l'intérieur du corps de seringue. L'adaptation de ces deux parties doit être parfaite. Elle l'est en effet dans ce modèle excellent, facile à approprier, facile à stériliser, des plus simples à manier ; le défaut est peut-être une fragilité un peu trop grande nécessitant des précautions.

Les *aiguilles* doivent naturellement être stérilisées comme la seringue.

Cette stérilisation peut s'obtenir en faisant simplement bouillir la seringue dans l'eau pendant un quart d'heure. Il faut alors prendre la précaution de desserrer quelque peu l'armature de la seringue pour donner de la liberté au cylindre de verre et lui permettre de se dilater. Il est à recommander aussi de faire pénétrer d'avance de l'eau dans la seringue; l'équilibre de température s'obtient plus vite. Lorsque la stérilisation doit être absolue, il est préférable de stériliser les seringues à l'autoclave; on a souvent avantage à stériliser la seringue toute montée dans un gros tube à essai fermé avec de la ouate hydrophile.

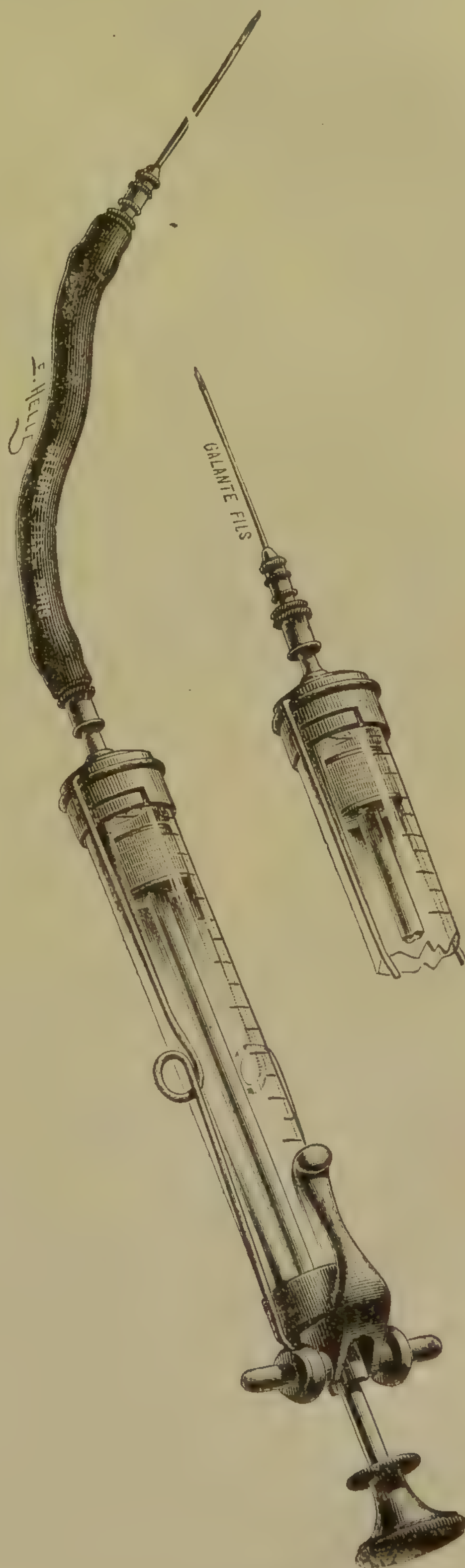


Fig. 143. — Seringue stérilisable de M. le professeur Debove.

Les aiguilles en *acier* s'oxydent dans l'eau bouillante; on peut éviter cet inconvénient en ne les mettant dans l'eau que lorsqu'elle a bouilli, puis en les plongeant dans l'alcool absolu au sortir de l'eau ou dans une solution de borax. Les aiguilles en *platine iridié* ne s'oxydent pas et peuvent même être stérilisées en les portant au rouge dans une flamme; elles piquent cependant moins bien que celles d'acier; de plus, le platine est souvent mal iridié et devient alors facilement cassant. Il faut entretenir avec soin les aiguilles d'acier, les frotter à l'extérieur avec de l'émeri très fin et aiguiser chaque fois l'extrémité tranchante sur une pierre ou du papier d'émeri. Après les avoir nettoyées et avant de s'en servir, il faut passer un fil métallique à l'intérieur.

Lorsqu'on veut inoculer ou retirer une grande quantité de liquide, il faut se servir de trocarts plus ou moins gros, auxquels on peut du reste adapter une seringue de contenance voulue.

On peut avoir à employer le *trépan* lorsqu'on veut agir directement sur les centres nerveux par exemple. La trépanation est une opération trop spéciale pour être décrite ici; on mettra en œuvre les indications données dans les Traités de chirurgie.

2° *Matière d'inoculation.*

Les matériaux qui doivent servir à inoculer sont ou des produits de cultures ou des produits pathologiques. Ces produits sont liquides ou solides.

Pour les liquides, il n'y a aucune difficulté. Il sont aspirés aseptiquement avec les pipettes ou les seringues stérilisées.

Les produits solides peuvent être inoculés directement, sous la peau ou dans une cavité naturelle par exemple. Ou ils peuvent être mis en suspension dans un liquide stérile, eau ou bouillon. Il suffit parfois de les délayer simplement dans le liquide; d'autres fois, il faut les triturer, les broyer, pour les dissocier convenablement. Il est naturel que ces opérations doivent se faire d'une façon tout à fait aseptique.

3° *Voies et méthodes d'inoculation.*

On peut introduire la matière d'inoculation dans l'organisme de différentes façons. L'expérimentateur se rappellera que les effets produits peuvent être variables suivant le point d'introduction; on en trouvera de nombreux exemples dans l'étude des espèces.

Les microbes peuvent pénétrer dans l'organisme par la voie intestinale, par la voie pulmonaire, par la surface tégumentaire; on peut encore les inoculer dans le sang, dans la cavité péritonéale, dans la plèvre, dans la chambre antérieure de l'œil, sous la dure-mère.

1. Inoculation par ingestion.

Les germes contagieux peuvent être introduits par l'*intestin*. Pasteur a jeté une vive lueur sur l'étiologie du charbon des animaux domestiques, en montrant que l'infection était possible si des germes de la Bactérie spéciale venaient à être introduits dans le tube digestif. Il est vrai que l'intégrité absolue des voies digestives, de l'entrée à la sortie, est une barrière très sûre contre l'invasion, mais c'est le cas le plus rare; il se trouve d'habitude quelque petite éraillure par où le parasite peut pénétrer dans la circulation. Toutes les causes qui lèsent l'intestin augmentent les chances de contagion; en mêlant des substances dures ou piquantes aux aliments, Pasteur a rendu charbonneux toute une série de moutons qu'il voulait contaminer. Il est même démontré aujourd'hui qu'il suffit de lésions d'importance bien moindre, d'une simple congestion de la muqueuse. D'autres fois, c'est à la destruction par les sucs intestinaux des Bactéries ingérées qu'il faut s'opposer. L'acidité du suc gastrique surtout est souvent nuisible; on y remédie en introduisant dans l'estomac, peu avant l'expérience, quelques centimètres cubes d'une solution de carbonate de soude. Il est du reste impossible, à l'heure actuelle, de tracer des règles générales; c'est à l'expérimentateur de chercher à tourner de son mieux les difficultés qui se présentent. On peut simplement mêler la matière d'inoculation aux aliments; ou bien on la fait pénétrer directement dans l'estomac à l'aide d'une sonde.

2. Inoculation par inhalation.

L'*inhalation* semble avoir donné quelques résultats positifs. Fried-

laender (1) a pu déterminer des pneumonies véritables en faisant respirer à des souris de l'air chargé du *Micrococcus de la pneumonie.* On arrive à ce but par divers artifices. On peut pulvériser, dans l'atmosphère où est placé l'animal, de l'eau chargée de la Bactérie à étudier prise dans une culture pure. Ou bien, on insuffle directement dans les voies respiratoires des cultures desséchées à basse température et réduites en poudre, pures ou mêlées avec des éléments très fins comme des spores de Lycopode ou de Lycoperdon. L'état de la substance à insuffler influe considérablement sur les résultats de l'expérience. Cadéac et Mallet (2) ont montré récemment, dans une série d'expériences dont le résultat pratique n'échappera à personne, que la tuberculose était parfaitement inoculable par inhalation de liquides pulvérisés tenant en suspension des Bacilles tuberculeux. L'infection s'observe au contraire très rarement lorsque les mêmes agents sont incorporés à des poussières. Il est encore facile de placer l'animal sous une cloche où l'on pulvérise des liquides chargés des produits à expérimenter.

3. Inoculation par la peau.

L'*application simple sur la peau*, suivie ou non de frictions, peut déterminer une infection localisée ou générale. Garré (3) a réussi à produire sur son bras un anthrax en frottant la peau de cette place, lavée et stérilisée d'avance, avec une culture pure de *Micrococcus pyogenes aureus* de troisième génération. L'anthrax était entouré d'une couronne de petits furoncles; dans ces divers foyers de suppuration, le *Micrococcus* employé se rencontrait en nombre considérable. Bockhart (4) a pu déterminer des symptômes blennorragiques en amenant des cultures pures de *Micrococcus gonorrheæ* au contact de la muqueuse urétrale saine. D'après des recherches de Babès, le *Bacille de la morve* pourrait aussi traverser la peau saine et causer une morve caractéristique. Le mode de pénétration de la Bactérie infectieuse dans ces cas est encore bien obscur; les glandes de la muqueuse ou de la peau paraissent devoir jouer le principal rôle.

La méthode d'*inoculation sous-cutanée* est de beaucoup la plus employée; c'est aussi elle qui donne les résultats les mieux connus. Les phénomènes y sont cependant complexes. La matière d'inoculation est portée dans le tissu cellulaire sous-cutané; mais elle trouve là différentes voies de pénétration; il est parfois bien difficile de déterminer celle qui est suivie.

Avant tout, la peau doit être préparée à l'opération comme il a été dit page 248, lorsqu'il s'agit d'expériences absolument rigoureuses.

Le moyen le plus simple consiste à faire, de l'extrémité d'un bistouri, une petite boutonnière à la peau que l'on soulève avec une pince. On

(1) Friedlaender, Die Mikrokokken der Pneumonie (*Fortschr. der Med.*, 1883).

(2) Cadéac et Mallet, Recherches expérimentales sur la transmission de la tuberculose (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 12 décembre 1887).

(3) Garré, Zur Aetiologie acuter eitriger Entzündungen (*Fortschr. der Med.*, 1885).

(4) Bockart, Beiträge zur Aetiologie und Pathologie des Harnröhrentrippers (*Vierteljahrschr. für Derm. und Syph.*, 1883).

creuse légèrement le tissu cellulaire avec une sonde cannelée, et dans la dépression produite on introduit une parcelle de la matière d'inoculation que le tissu enserre en revenant sur lui-même. Rappelons que les instruments doivent être stérilisés bien sûrement et qu'il serait imprudent de reprendre un instrument qui a été déposé, ne fût-ce que quelques secondes. Il faut donc prendre soin de s'approvisionner d'avance. C'est le procédé courant suivi dans les laboratoires pour se procurer de la matière tuberculeuse pure. On inocule un cobaye sous l'abdomen avec un produit tuberculeux quelconque; quinze jours ou trois semaines après, il est bon à sacrifier, ses organes sont d'ordinaire farcis de tubercules.

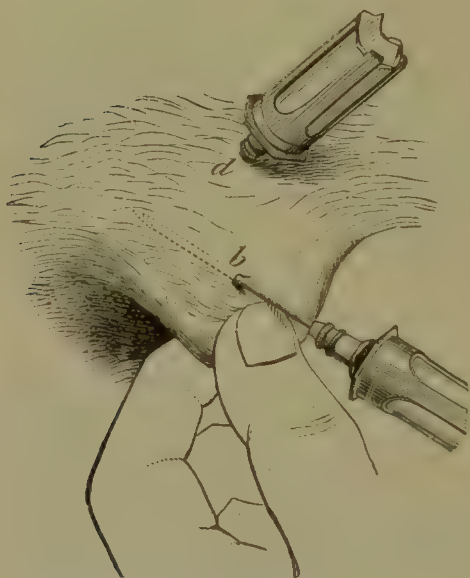


Fig. 144. — Injection hypodermique (manuel opératoire).

On choisit de préférence une région du corps où le tissu cellulaire sous-cutané est très lâche. On tire la peau de façon à lui faire faire un gros pli (fig. 144); on brûle au fer rouge une place très limitée ou on l'aseptise très soigneusement par des lavages au sublimé après avoir rasé les poils et, à l'endroit voulu, on introduit la canule de la seringue qu'on a eu la précaution de flamber. On vide la seringue de son contenu qui se répand dans le tissu piqué.

La souris doit être inoculée sous la peau du dos à la racine de la queue, ou à la base de la cuisse. Le cobaye a, en bien des endroits du corps, une peau épaisse et dure, une véritable couenne; l'endroit le plus favorable à la pénétration de l'aiguille est le milieu des pattes postérieures. Le lapin s'inocule facilement sur les membres ou sur le dos.

4. Inoculation intraveineuse.

Elle se fait en injectant dans une veine, à l'aide d'une seringue ou d'une pipette effilée, une certaine quantité de liquide. Le liquide doit être soigneusement filtré ou ne tenir en suspension que des éléments très fins, passé sur un linge de batiste par exemple; la présence de grumeaux détermine presque toujours une embolie mortelle.

Ces *injections intraveineuses* offrent souvent le grand avantage d'une action beaucoup plus prompte; de plus, il ne peut y avoir de méprise sur la voie exacte qu'a suivie l'infection. Les effets produits, il faut se le rappeler, peuvent être tout différents, en plus ou en moins, de ceux déterminés par l'injection sous-cutanée par exemple; l'étude des espèces en fournira des preuves nombreuses.

Le manuel opératoire est relativement simple lorsqu'on a facilement à sa portée une veine assez grosse, comme plusieurs veines de l'oreille du lapin. On coupe les poils aux ciseaux courbes et on lave soigneusement au sublimé. On comprime la portion de veine à son bout central

pour la faire gonfler, et on pique avec l'aiguille de la seringue tenue à la main ou portée par un petit mandrin de bois. Si l'aiguille est réellement dans la veine, on voit sourdre une goutte de sang par son ouverture postérieure. On cesse la compression, on adapte la seringue et on pousse *doucement* l'injection dans le *sens du courant sanguin*. L'inoculation terminée, on retire l'aiguille; le petit orifice de la paroi veineuse se referme de suite.

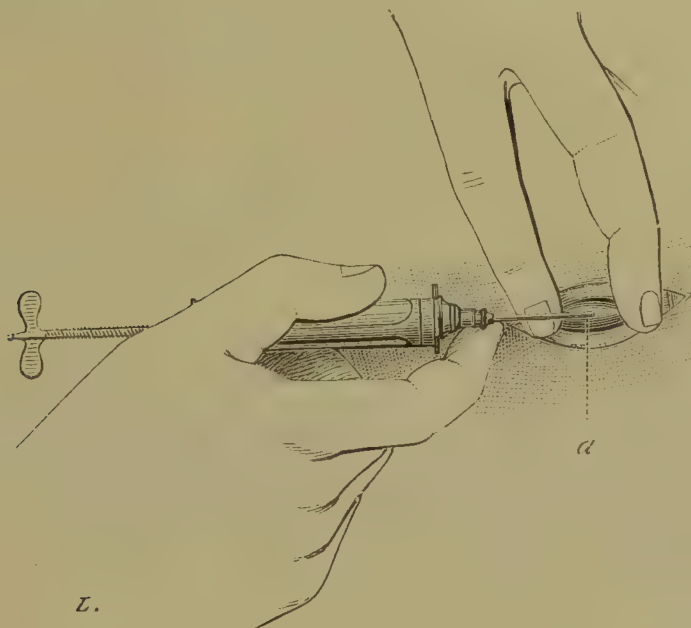


Fig. 145. — Injection intraveineuse avec une seringue à petite canule acérée (*a*) (Cl. Bernard).



Fig. 146. — Veine jugulaire du lapin; direction de l'incision *ab*, par laquelle on arrive sur cette veine (Cl. Bernard).

Lorsque la veine est située plus profondément, il faut la dénuder. La figure 146 indique la direction et l'étendue de l'incision qui permet de découvrir la veine jugulaire du lapin. Chez le cobaye, il est nécessaire de s'adresser à la jugulaire que l'on met aussi à nu préalablement, les veines superficielles sont trop petites. Chez le chien, c'est la veine saphène qui offre le plus de facilités. On l'aperçoit facilement sous la

peau de la face externe de la partie terminale de la patte, faisant un angle aigu avec le tendon d'Achille. En incisant la peau, on la met facilement à nu. Souvent, pour ces petites veines, surtout quand l'injection doit être de quelque durée, on a intérêt à isoler le vaisseau sur une sonde cannelée avant de le ponctionner. Chez le cheval, il est très facile de pénétrer dans la jugulaire, en faisant une petite incision à la peau comme il a été dit pour la saignée (p. 178); ici le vaisseau est assez gros pour qu'on puisse le ponctionner d'autorité. Chez les oiseaux, on fait l'injection dans la veine axillaire que l'on aperçoit sous l'aile, immédiatement sous la peau.

5. Inoculation intrapéritonéale.

Les *injections intrapéritonéales* peuvent se faire avec des seringues ou avec des pipettes de verre effilées lorsque la matière à inoculer est tant soit peu épaisse et visqueuse.

L'inconvénient à éviter est la perforation de l'intestin. On pince la peau et les muscles de l'abdomen et on pousse hardiment l'aiguille dans le bourrelet soulevé pour le séparer de la masse intestinale; on s'assure par la palpation que l'aiguille n'est pas passée sous la peau. On peut aussi faire une petite boutonnière à la peau du ventre préalablement stérilisée : les muscles apparaissent; on les traverse doucement avec l'aiguille ou l'extrémité effilée de la pipette jusqu'à ce qu'on sente la résistance cesser.

Pour étudier l'action directe des produits formés par les microbes, ou pour mettre les microbes dans des conditions particulièrement favorables qui permettent souvent d'exalter d'une façon très notable leur virulence, l'emploi de l'introduction dans le péritoine d'animaux divers, cobayes, lapin, chien, mouton, etc., de sacs de collodion remplis de bouillon ensemencé, est des plus recommandables. Ce procédé a été imaginé par Metschnikoff, Roux et Salimbeni (1) pour leurs études sur la toxine et l'antitoxine cholériques; il a été appliqué depuis, et avec succès, à bien des espèces, pathogènes ou non.

On prépare de petits *sacs de collodion* de la contenance de 1 à quelques centimètres cubes, à paroi très mince, en enroulant un peu de collodion, non riciné de préférence, sur l'extrémité fermée d'un tube à essai. A l'Institut Pasteur, on dit l'extrémité extérieure; on semble mieux réussir en opérant à l'intérieur du tube. On laisse sécher; le petit doigt de gant obtenu se sépare facilement du verre. Les sacs sont stérilisés à l'autoclave. On y verse la quantité voulue de bouillon ensemencé et on ferme avec un fil de soie aseptisé. On les introduit alors dans le péritoine de l'animal en prenant les précautions aseptiques nécessaires pour une telle opération. L'animal ne souffre pas d'ordinaire, ni de l'intervention ni de la présence du sac dans la cavité péritonéale. Le sac peut être repris au bout d'un temps variable, quelques jours à plusieurs mois, en sacrifiant l'animal. La paroi de collodion empêche la sortie des microbes et les met à l'abri des phagocytes, mais laisse s'opérer les échanges osmotiques qui modifient d'un côté la composition

(1) Metschnikoff, Roux et Salimbeni, Toxine et antitoxine cholériques (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 257).

du liquide enfermé, et de l'autre laisse diffuser les produits sécrétés par le microbe. En ouvrant le sac, on y trouve d'ordinaire une culture très abondante, de virulence très marquée, qui peut alors s'accroître beaucoup par une série de passages opérés de la même manière.

Le sac de collodion peut être remplacé par un segment plus ou moins long de la fine membrane tubulaire qui tapisse la cavité centrale du roseau, ou tout autre produit analogue (1).

6. Inoculation intrapleurale.

On pique dans les premiers espaces intercostaux, près du creux axillaire; on fait de même l'inoculation *intrapulmonaire*.

7. Inoculations dans la chambre antérieure de l'œil.

Elles sont très avantageuses à utiliser dans bien des cas. D'abord, les lésions produites se voient souvent bien et peuvent être suivies dans leur développement macroscopique. De plus, c'est une voie simple et facile à emprunter pour agir sur les centres nerveux. La pratique de ces injections est des plus aisées. On insensibilise l'œil avec quelques gouttes de solution de chlorhydrate de cocaïne et, quand l'anesthésie est complète, on enfonce l'aiguille perpendiculairement dans la chambre antérieure de l'œil que l'on maintient fixe entre le pouce et l'index.

8. Inoculation intracranienne.

On choisit la région frontale ou temporale. On incise la peau et le périoste, puis on pose une couronne de trépan de 5 à 10 millimètres de diamètre. Il faut aller prudemment pour ne pas perforer la dure-mère. On enlève la rondelle d'os et on aperçoit de suite la dure-mère que l'on pique obliquement pour ne pas pénétrer dans la substance cérébrale; l'injection est poussée lentement. Pour l'inoculation *intracérébrale*, l'aiguille est enfoncée directement dans le cerveau.

Les suites opératoires de ces diverses interventions sont d'ordinaire très simples. Le plus souvent il suffit de faire aux petites plaies des lavages antiseptiques ou de les toucher avec une baguette de verre fortement chauffée. Si les incisions sont de quelque importance, il est bon de faire une suture avec l'aiguille de Reverdin. On peut aussi placer un pansement aseptique; c'est surtout nécessaire lorsque la plaie se trouve à un endroit que l'animal peut lécher ou gratter.

Les animaux en expérience doivent naturellement être mis dans des conditions de vie irréprochables et être surveillés avec soin. Les cages doivent pouvoir être désinfectées avec soin; celles en fil de fer galvanisé répondent à toutes les exigences.

Ce n'est, répétons-le, qu'en se plaçant dans des conditions d'expérience aussi rigoureuses, qu'on se trouve en droit de formuler des conclusions véritablement scientifiques et à l'abri de tout reproche.

(1) Nocard et Roux, Le microbe de la péripneumonie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 244).

On ne doit jamais demander à l'expérimentation plus qu'elle ne peut donner. Certaines maladies infectieuses semblent ne pouvoir se développer avec leur cortège de symptômes bruyants, que dans une seule espèce ou tout au plus quelques-unes, dans les conditions habituelles d'expérience. On n'est pas en droit d'en faire un signe absolu pour rejeter la spécificité de la maladie où le germe a été observé. Les exemples de faits pareils se rencontrent à tout instant; n'avons-nous pas vu, par exemple, la souris des champs résister au Bacille de la septicémie qui tue si rapidement la souris de maison? D'ailleurs, il n'est pas à dire qu'en variant les conditions d'expérience on ne puisse arriver à un résultat satisfaisant. L'histoire du choléra servira à convaincre les plus incrédules.

Il peut être en effet nécessaire, pour provoquer ou favoriser l'infection, de modifier les conditions normales de l'animal d'expérience en affaiblissant l'une quelconque de ses fonctions ou un organe déterminé. On crée ainsi une véritable *prédisposition*, imitant très probablement ce qui se passe souvent dans la nature, où l'infection ne peut se faire que lorsque les moyens de résistance de l'organisme sont amoindris ou même anéantis.

4° Examen de l'animal vivant.

Les animaux inoculés peuvent être soumis aux méthodes ordinaires d'examen et d'exploration.

Au cours du développement de la maladie provoquée par l'inoculation, on peut avoir intérêt à examiner du sang, des humeurs ou des produits pathologiques. On recueille ces produits tout à fait aseptiquement comme il a été dit précédemment pour l'ensemencement des milieux (p. 246). On les soumet ensuite aux procédés d'examen nécessaires.

5° Autopsie et discussion des résultats.

On doit souvent mettre à mort l'animal pour étudier les lésions produites s'il ne succombe pas à l'infection. On peut recourir à l'asphyxie par le chloroforme, ou le gaz d'éclairage qui est à préférer si l'on veut faire des coupes d'organes, ou à un empoisonnement aigu ; le mieux dans ce dernier cas est de s'adresser à la nicotine ou à l'acide prussique. On peut aussi facilement piquer le bulbe, avec un scalpel à lame mince et courte que l'on introduit entre l'occipital et l'atlas.

L'autopsie doit se faire régulièrement, l'animal étant solidement fixé sur une planchette à trous. La récolte des produits suspects doit être faite très soigneusement; les prélèvements destinés aux cultures surtout doivent être recueillis d'une façon absolument aseptique, comme cela a été indiqué page 246.

L'autopsie terminée, il est souvent nécessaire de désinfecter les cadavres. On peut les stériliser à l'autoclave, si l'on ne craint pas de produire des odeurs désagréables. En hiver, les cobayes, et même les lapins, sont facilement incinérés dans les grands fourneaux des laboratoires. Il existe des modèles très commodes de petits fours crématoires pour ces incinérations; malheureusement, ils sont coûteux. On peut aussi utiliser les solutions antiseptiques fortes ou la destruction par

l'acide sulfurique suivant le procédé d'Aimé Girard, ou le mélange à parties égales d'acide sulfurique et de bichromate de potasse ou de soude. Avec les deux derniers moyens, il faut tenir compte de l'échauffement et de l'augmentation de volume du bain.

Dans la discussion des résultats, il ne faut pas se départir d'une grande prudence et se souvenir surtout, lorsqu'il s'agit de *Vibrion septique*, de *Colibacille*, de *Bacille pyocyanique*, de *Staphylocoque doré*, de la possibilité de l'envahissement cadavérique dont il sera parlé plus loin.

Expérimentation sur l'homme.

C'est là un sujet des plus délicats dont il est nécessaire cependant, dans un ouvrage comme celui-ci, de dire quelques mots. Dans un tel cas, il ne faut jamais se départir de la plus grande prudence et ne pas se laisser guider seulement par des idées générales, voire même des résultats déjà acquis. Nous savons en effet quelle grande importance ont les *prédispositions individuelles* dans ces questions d'infection. Si Bochefontaine, Pettenkoffer, ont pu avaler impunément des selles ou des cultures cholériques, on a malheureusement des exemples de choléra mortel contracté au laboratoire, dans un but d'expérimentation.

L'observateur consciencieux doit se faire une règle d'opérer sur lui-même. Aussi tiendra-t-il pour un véritable cas de conscience d'accepter des dévouements proposés; il devra même toujours tempérer des ardeurs d'aides trop courageux ou surtout trop dévoués, facilement portés à se sacrifier.

C'est ici encore l'occasion de dire que bien de ces recherches et de ces manipulations sont dangereuses et qu'il ne faut *jamais rien omettre* des précautions voulues pour éviter tout risque; les accidents arrivent toujours trop vite. Il faut constamment avoir en vue la possibilité de la dissémination des germes virulents dans le laboratoire, germes qui peuvent être surtout dangereux pour des organismes affaiblis ou prédisposés. On connaît des cas certains de contagion de tuberculose et de morve dans des laboratoires où l'on étudiait les microbes de ces affections. Avec la tuberculose, le tétanos, la morve, la diphtérie, le charbon, certaines septicémies, sont particulièrement dangereux. Lorsqu'on manipule de tels virus, les précautions doivent être doublées, je ne crains pas de dire exagérées. Il est inutile d'aller grossir une liste obituaire déjà certainement trop chargée.

Aussi, les cultures virulentes qui ne servent plus, même celles affaiblies, les produits pathologiques virulents, les instruments et objets souillés, doivent être soumis *aussitôt que possible* à une stérilisation sûre. C'est une marche à suivre dont il ne faut *jamais* se départir. La désinfection des mains, des autres parties du corps ou des vêtements qui peuvent être accidentellement souillés, est aussi de la plus haute importance au même point de vue.

IV. — PRÉPARATIONS ET ÉTUDE MICROSCOPIQUES.

L'étude des Bactéries au microscope présente souvent à surmonter des difficultés assez grandes provenant des objets à examiner d'abord, de très petite taille et de faible réfringence, puis de l'emploi nécessaire

de forts grossissements qui en est une conséquence. Aussi ne doit-on pas s'étonner du peu de progrès qu'a fait pendant longtemps la connaissance de ces êtres, alors que la technique scientifique n'était pas à même de résoudre ces difficultés.

C'est surtout depuis l'emploi des matières colorantes en Bactériologie qu'il a été permis de scruter plus à fond la structure de ces Bactéries et d'en constater la présence là où on n'avait fait que les soupçonner et même où elles avaient été niées.

Examen à l'état naturel.

L'examen des Bactéries vivantes, bien qu'il doive toujours être complété par des procédés suivants, fournira des renseignements de première importance que ne pourront donner les méthodes plus compliquées. Aussi doit-il être pratiqué dans tous les cas. C'est le seul moyen d'observer les mouvements des espèces qui en présentent, et la coloration que peuvent offrir les cellules isolées ou réunies en masse, particularités qui disparaissent ou se modifient sous l'influence de réactifs ; de se rendre un compte exact de la forme, des dimensions, de l'aspect des différentes parties dont les rapports changent plus ou moins suivant les manipulations qu'on leur fait subir. Aux autopsies, on ne doit jamais négliger d'examiner de cette façon une gouttelette de sang : ce simple examen peut donner des indications précieuses.

La marche à suivre est du reste des plus simples. Si les Bactéries à examiner sont en suspension dans un liquide, il suffit d'en déposer une goutte sur un porte-objet et de recouvrir avec une lamelle. Si elles forment des masses solides, on en détache une petite parcelle qui est délayée dans un liquide neutre, dépourvu de germes, eau ou bouillon stérilisés. Ces opérations se font très facilement avec un fil de platine emmanché qu'on recourbe à volonté à son extrémité et qu'on a grand soin de rougir à la flamme avant et après chaque contamination. Lorsqu'il y a suffisamment d'aliments dans le liquide employé, les Bactéries continuent à y vivre; on peut alors les observer pendant assez longtemps en empêchant la préparation de se dessécher. On le fait en lutant les bords de la lamelle à la paraffine ou en plaçant la préparation dans une chambre humide dont elle n'est sortie que par intervalles et seulement le temps nécessaire pour l'étudier. Le manque d'oxygène peut avoir une action défavorable, surtout chez les espèces qui en sont avides; on ne trouve bientôt de cellules vivantes qu'aux endroits où elles peuvent respirer, sur les bords de la lamelle surtout; si la préparation est lutée, l'asphyxie se produit vite partout. Lorsqu'on a affaire à des espèces peu exigeantes sous ce rapport, ou à plus forte raison à des anaérobies, on peut suivre pendant très longtemps leurs phénomènes vitaux.

Il est préférable de recourir aux modes spéciaux de cultures sur porte-objet qui ont été décrits précédemment (p. 220), à l'aide desquels on pourra étudier, pendant tout le temps voulu, le développement, voir s'opérer de nombreuses divisions et les spores se former dans les cellules.

Des liquides neutres, n'exerçant aucune action sur les cellules, peuvent être employés aux lieu et place de bouillon. Pour les Bactéries

pathogènes, il peut être rationnel d'employer des liquides organiques, sérum, humeur aqueuse, liquides de ponction par exemple. La solution concentrée d'acétate de potasse (acétate de potasse pur, 1 gramme; eau, 2 grammes) rend dans ce cas d'excellents services. Elle ne contracte pas le protoplasma des Bactéries, ne change en rien leur forme, mais supprime presque toujours les mouvements lorsqu'ils existent. De plus, elle constitue un très bon liquide conservateur qui permet de transformer la pièce en préparation durable; il n'est même pas nécessaire de luter de suite, la solution ne s'évaporant que très difficilement.

L'emploi de solutions colorantes peu concentrées et inertes donne de très bons résultats. La plupart des espèces vivent très bien toute une journée dans les solutions faibles de fuchsine ou de violet de gentiane, dépourvues des moindres traces d'alcool. Une solution aqueuse assez forte de vert de méthyle est à recommander pour ces examens extemporanés; elle aide à distinguer d'intéressants détails de la masse protoplasmique dont certaines portions sont bien plus avides que les autres de cette matière colorante, si prisée en histologie pour l'étude des formations nucléaires.

Pour les espèces qui ne végètent bien qu'à une température assez élevée, l'usage des *platines chauffantes* devient très utile. On peut facilement laisser la préparation à demeure dans la platine qui est placée sur le microscope chaque fois qu'il est nécessaire. Dans les intervalles, elle se pose sur un support de même hauteur que la platine du microscope. Ces mêmes appareils servent aussi à étudier l'action des hautes températures sur les Bactéries. La *platine chauffante* de Ranvier et la *chambre chaude* de Vignal (p. 166) répondent à tous les besoins.

Examen à l'aide de réactifs.

Les préparations, faites comme il vient d'être dit, sont loin de suffire à toutes les exigences. La transparence des Bactéries est souvent si grande qu'il est difficile de les distinguer ; leur réfringence peu considérable se confond presque avec celle du liquide employé. Les contours sont alors d'autant moins nets que l'indice de réfraction du liquide est élevé; assez visibles dans des liquides aqueux, ils deviennent difficiles à suivre dans des liquides visqueux plus réfringents, le sang, les liquides albumineux, les solutions sucrées concentrées, par exemple. Si, de plus, les Bactéries sont rares dans la préparation, l'œil n'étant attiré sur elles par aucun signe bien évident, la recherche en devient longue, difficile, voire même impossible. Si, au contraire, on les teint d'une nuance éclatante sur le fond incolore ou coloré d'une autre teinte, de façon à faire contraste, il devient très facile de les distinguer rapidement. Il en est de même lorsque les Bactéries sont noyées dans d'autres éléments, lorsqu'il s'agit par exemple d'en rechercher dans des tissus, où elles se trouvent incluses dans le corps protoplasmique ou réparties entre les éléments. On doit, en outre ici, mettre à profit des méthodes spéciales de coloration qui permettent de fixer sur les Bactéries une matière colorante, tandis que le tissu lui-même, ou les éléments autres que ces parasites, sont colorés différemment.

Pour conserver aux éléments leur structure primitive et pour les soustraire à l'action souvent nuisible des liquides colorants et conser-

vateurs, il est nécessaire de les *fixer* dans leur forme à l'aide de réactifs spéciaux, dont la manipulation est expliquée tout au long dans les manuels pratiques d'histologie. La *fixation*, la *coloration* et le *montage* des préparations sont les trois temps successifs de la méthode qui permet d'obtenir des préparations durables.

I. — Fixation des préparations.

Réactifs fixateurs.

L'emploi des réactifs de fixation varie suivant qu'on a à examiner des liquides ou des parties solides de tissus. Étudions d'abord le premier cas, nous passerons au second ensuite.

1° Fixation par la dessiccation simple.

La *dessiccation* simple avait été recommandée dès 1838, par Ehrenberg (1), comme moyen de conservation et d'observation des organismes inférieurs. C'est en desséchant sur une lamelle de verre du liquide contenant des Bactéries ou des Infusoires qu'il est parvenu à découvrir certaines particularités fort intéressantes de leur structure, qu'il a aperçu, entre autres, les cils vibratiles, les *trompes*, suivant son expression, d'une grande espèce de Schizomycètes, son *Bacterium triloculare* qui n'est pas encore rapporté jusqu'ici à une espèce connue. Le procédé est du reste appliqué avec succès en histologie pour certaines études délicates, en particulier celle du sang, ce qui en démontre la valeur. Koch (2) en a perfectionné les détails en l'appliquant à l'étude spéciale des Bactéries ; il en a fait voir, dans l'excellent article cité, les nombreux avantages et en a signalé les inconvénients, auxquels il est facile de remédier.

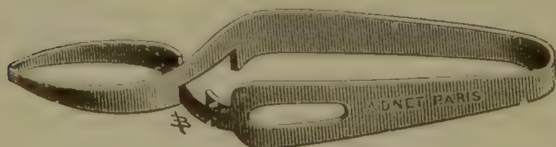


Fig. 147. — Pince de Cornet.

On dépose sur une lamelle *bien propre* une goutte du liquide contenant des Bactéries, ou d'un liquide privé de germes par une filtration rigoureuse et une stérilisation, dans lequel est délayée une partie de la culture prise au bout d'un fil de platine avec les précautions voulues. Plus le liquide est chargé de Bactéries, plus la goutte doit être petite ; on a souvent alors avantage à la répartir en stries ou en couche mince sur la lamelle à l'aide d'un fil de platine. Pour cette opération et les suivantes, il est très commode de se servir de petites pinces dites *pinces de Cornet*, du modèle représenté figure 147. La lamelle est desséchée avec soin sur une plaque métallique chauffée de 40 à 50°, ou au-dessus d'une flamme, en la maintenant assez haut pour que la température ne soit pas plus élevée ; la face qui porte la goutte doit être tournée vers le haut. Dans les recherches qui néces-

(1) Ehrenberg, Die Infusionsthierchen als volkommene Organismen, 1838.

(2) Koch, Untersuchungen über Bacterien, VI. Verfahren zum Conserviren und Photographiren der Bacterien (*Beitr. zür Biol. der Pflanzen*, vol. III, 3e p.), traduit dans *Revue intern. des sc.*, III, 1879, p. 55.

sitent une précision absolue, il faut éviter d'exposer à la contamination par les poussières de l'air la face de la lamelle où est déposé le liquide ; on la soumet à la chaleur modérée en tournant ce côté vers le bas, ou on la laisse pendant quelque temps dans un dessiccateur à acide sulfurique ou à chlorure de calcium, placée dans la même situation.

Lorsque la dessiccation est achevée, on peut traiter la préparation par des réactifs qui, employés au début, auraient donné de mauvais résultats en contractant le corps cellulaire ou en modifiant son aspect. De plus, les préparations sèches peuvent se conserver pendant longtemps telles quelles, sans s'altérer et sans qu'on ait à craindre de voir pénétrer et s'y développer des espèces étrangères, ce qui permet de faire, à un moment donné, une provision de lamelles qu'on n'utilisera que plus tard.

Par la dessiccation, la forme et l'aspect des Bactéries changent fort peu. Elles se dessèchent comme des corps rigides sans se rétracter ; leur enveloppe gélatineuse les fixe à la lamelle et les empêche ainsi de se ratatiner. Il se produit cependant quelques modifications de forme ; les colonies massives s'aplatissent, leurs éléments s'accolent dans un plan unique, ne montrent plus les rapports qui existaient entre eux ; les espèces hélicoïdes, en s'aplatissant et s'accolant au verre, donnent une simple ligne ondulée. Pour remédier en grande partie à ces inconvénients, Koch conseille de se servir, comme liquide conservateur, de la solution concentrée d'acétate de potasse, qui gonfle légèrement la couche gélatineuse de la membrane et rend à la cellule ses dimensions primitives.

Il est chanceux de soumettre les lamelles ainsi préparées à l'action d'un liquide de lavage, et même d'une solution colorante aqueuse. La couche, obtenue en desséchant simplement la goutte de liquide, se gonfle en effet presque toujours très facilement par l'eau et se dissocie dans le liquide. En outre, lorsque le liquide évaporé contient des matières albuminoïdes ou des substances cristallisables, il se forme des précipités qui troublent la préparation et cachent plus ou moins les Bactéries qu'on y cherche.

2° Fixation par la chaleur.

C'est surtout pour remédier à ces deux défauts et pour faciliter l'action des agents de coloration que Koch a dû modifier sa méthode. Il a été conduit à employer comme agent de fixation la *chaleur de 120 à 130°*, très vantée déjà par Ehrlich (1) dans ses études sur les corpuscules du sang. Dans une série de recherches minutieuses, le savant bactériologiste de Berlin a déterminé d'une façon précise les conditions de l'opération et surtout la durée pendant laquelle les préparations doivent subir l'action de la chaleur. Exposée un temps trop court à cette température, la pellicule obtenue se dissocie trop facilement au lavage ; lorsqu'au contraire elle a été trop chauffée, les éléments sont altérés, diffluent ou se ratatinent, et surtout perdent l'importante propriété de fixer convenablement les matières colorantes.

(1) Ehrlich, Methodologische Beiträge zur Physiologie und Pathologie der verschiedenen Formen der Leukocyten (*Zeitschr. für klin. Med.*, I, p. 553).

On obtient facilement la température voulue en usant de l'étuve à air, réglée à 120-130° au moyen d'un régulateur à mercure. On y arrive également en chauffant au bec Bunsen une plaque métallique assez épaisse; immédiatement au delà de l'endroit où une goutte d'eau projetée prend l'état sphéroïdal, la plaque a une température d'environ 120° (*caléfaction*).

La goutte de liquide déposée sur la lamelle, comme précédemment, est évaporée à une douce chaleur ; puis le couvre-objet est placé, la face chargée tournée vers le haut, dans l'étuve ou sur la plaque chauffée. Le temps d'exposition à la chaleur varie avec le degré obtenu ; la préparation doit rester cinq minutes environ de 120° à 130°, et de dix à quinze minutes à 110 degrés.

Les recherches de Koch (1) lui ont fait adopter un procédé infiniment plus simple, pratique, tout en donnant d'aussi bons résultats. Il recommande, pour opérer la fixation parfaite de la couche obtenue par dessiccation sur la lamelle, de *passer trois fois dans la flamme d'un bec de Bunsen brûlant à bleu le couvre-objet à traiter, la face sur laquelle se trouve la couche de dessiccation tournée vers le haut.* L'exécution de cette opération demande un peu d'habitude, qui s'acquiert du reste bien vite en pratiquant. Le passage dans la flamme doit se faire avec une certaine lenteur, *comme si l'on coupait du pain*, disent les auteurs du procédé. A défaut de gaz, on peut employer la flamme d'une forte lampe à alcool. La réussite ou la non-réussite de certaines préparations profiteront plus que toutes les indications. Il faut naturellement avoir soin de tourner vers le haut la face de la lamelle sur laquelle se trouve la pellicule sèche, sans quoi les éléments atteints directement par la flamme seraient très vite complètement désorganisés. Il en est de même si la lamelle est soumise trop longtemps à la flamme et est conséquemment portée à une température trop haute. Si on ne chauffe pas assez, la couche se délitera trop facilement au lavage. En chauffant trop, on peut modifier profondément le corps cellulaire; la membrane et le protoplasma deviennent diffluents, ils perdent le pouvoir de fixer les couleurs ; seules, les membranes très résistantes, celles des spores par exemple, peuvent garder leur aspect normal, quoique modifiées aussi, car elles se laissent imprégner par les solutions colorantes qui n'avaient auparavant aucune action sur elles. Nous saurons utiliser cette particularité en étudiant la coloration des spores.

Voici, en résumé, quelle est la marche à suivre pour obtenir la fixation convenable des Bactéries par ce procédé. Une goutte de liquide à examiner est déposée sur un couvre-objet très propre. Lorsqu'on a affaire à une substance visqueuse ou solide, des crachats ou une parcelle de culture, on en délaye très peu sur la lamelle dans une gouttelette d'eau pure, ou on écrase une petite portion entre deux lamelles qu'on sépare en les frottant l'une contre l'autre, de manière à étaler la substance en couche assez mince. Dans ces différents cas, la lamelle est soumise à la dessiccation à basse température, 40°-50°, soit sur une plaque tiède, soit en la maintenant assez loin au-dessus d'une flamme, à l'aide de pinces, à un niveau où la chaleur est douce. C'est seulement lorsque l'éva-

(1) Koch, Die Aetiologie der Tuberculose (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1887, p. 7).

poration est complète, que la lamelle est lentement passée dans la flamme, par trois fois, en ayant soin de ne mettre aucun temps d'arrêt dans chaque opération. Elle est alors suffisamment fixée ; on peut procéder sans crainte aux manipulations ultérieures, surtout faire agir les réactifs colorants.

Les Bactéries qui ont ainsi subi l'action d'une telle chaleur sont, il faut en être prévenu, légèrement modifiées dans leurs formes et dans leurs dimensions. Il se produit une rétraction, un raccourcissement des éléments, peu important il vrai, mais qui peut cependant être sensible quand il s'agit de mensurations rigoureuses de quantités aussi petites. Aussi doit-on poser en principe de ne jamais mesurer que les cellules vivantes, dans leur état normal, lorsqu'il s'agit de fixer les caractères d'une espèce et, ce qui résulte des mêmes considérations, de n'établir de comparaisons rigoureuses qu'entre des préparations obtenues d'après la même méthode. Il est même des espèces, le *Spirille de la fièvre récurrente*, par exemple, qui supportent très mal l'action de la chaleur ; il faut alors user de fixatifs chimiques.

Ce moyen de fixation ne peut guère être employé que pour les liquides. Il serait difficile, en effet, d'y soumettre des morceaux de tissus, qui s'altéreraient trop dans leur structure. Il faut, dans ce cas, recourir aux réactifs chimiques, qui sont, par contre, d'un emploi moins général pour fixer les Bactéries dans les liquides.

3° Fixation par les réactifs chimiques.

L'*acide osmique*, utilisé par Blanchard (1) et Certes (2) pour l'étude d'autres organismes inférieurs, peut servir dans les cas où la chaleur ne rend pas la couche de dessiccation parfaitement adhérente à la lamelle, mais seulement dans les cas où le liquide est peu riche en matières graisseuses et albuminoïdes. Une goutte d'une solution d'acide osmique à 1 ou 2 p. 100 sera mélangée sur la lamelle à une goutte du liquide à examiner, ou mieux une goutte de ce liquide sera évaporée sur la lamelle, puis le résidu soumis à l'action d'une solution osmiquée. L'acide osmique en vapeurs donne aussi de très bons résultats; Fischer (3) le recommande concurremment avec l'emploi d'iode en solution alcoolique. L'acide osmique se vend en tubes scellés de 1 gramme ou de un dixième de gramme. Il faut préserver ses solutions de la lumière et plus encore éviter soigneusement les poussières. Le mieux est de conserver l'acide osmique en flacons à l'émeri sous forme d'une solution à 2 p. 100 dans la solution d'acide chromique à 1 p. 100, selon le conseil de Bolles Lee et Henneguy. La même solution servira pour la fixation au moyen des vapeurs et aussi pour faire la liqueur de Flemming. Il est également nécessaire de se souvenir que les vapeurs sont irritantes et parfois provoquent des conjonctivites.

L'*acide chromique* et les *chromates* alcalins, si employés autrefois, pré-

(1) Blanchard, Sur la préparation et la conservation des organismes inférieurs (*Revue intern. des sc.*, III, 1879, p. 245).

(2) Certes, Sur l'analyse micrographique des eaux (*Assoc. franç. pour l'av. des sc.*, *Congrès de la Rochelle*, 1882, p. 777).

(3) Fischer, Untersuchungen über Bakterien (*Jahrb. für wiss. Bot.*, XXVII, 1894).

sentent tant d'inconvénients qu'ils ne doivent plus servir à fixer qu'exceptionnellement. On donne maintenant la préférence à l'un ou l'autre des deux fixateurs suivants.

Le *mélange chromo-acéto-osmique de Flemming* (mélange fort) est très à recommander comme fixateur des tissus, d'autant plus qu'il n'empêche pas la coloration subséquente des Bactéries. Il se prépare ainsi, d'après Bolles Lee et Henneguy : on fait et on conserve à part : *a*) une solution contenant : acide chromique à 1 p. 100, 11 parties ; eau, 4 parties ; acide acétique, 1 partie, et *b*) une solution d'acide osmique à 2 p. 100, dans l'acide chromique à 1 p. 100. Pour faire le liquide définitif, on mêle 4 parties de *a* avec une partie de *b* ; il est préférable de ne faire le mélange qu'au moment du besoin. On fixe de très petits fragments par une immersion de une heure à vingt-quatre heures de durée, on lave ensuite à l'eau courante pendant le même temps, puis successivement aux alcools à 70°, 80°, 90°. Après cette fixation, les diverses méthodes de colorations à la *safranine O* (*Wasserlöslich*) sont les plus recommandables.

Le *sublimé* en solution aqueuse saturée est également un fixateur de premier ordre, pourvu qu'on ne le laisse agir que le temps voulu et qu'on l'éloigne ensuite rapidement et complètement par des lavages successifs dans les alcools à 70°, 80°, 90°, auxquels on ajoute de la teinture d'iode jusqu'à ce que les objets ne décolorent plus le mélange. On fixe avec le sublimé des fragments dont le diamètre ne dépasse pas un tiers de centimètre, en une demi-heure à vingt-quatre heures. Le meilleur mode de préparation est de dissoudre en chauffant 75 grammes de sublimé dans 1000 grammes d'eau. Quand le fond du vase refroidi se tapisse d'aiguilles cristallines blanches, le liquide peut seulement être considéré comme saturé.

L'*alcool absolu* durcit bien, mais conserve mal les structures. Il a cependant l'avantage, sur les deux méthodes précédentes, de la rapidité et de la facilité. Kühne en conseille l'usage pour fixer les tissus qu'on doit couper au microtome à congélation. Koch s'en est surtout servi pour fixer des liquides. Les lamelles munies de la couche mince obtenue par évaporation du liquide sont placées dans un bain d'alcool absolu pendant un temps variable (deux ou trois jours) jusqu'à coagulation parfaite et adhérence complète au verre. C'est l'appréciation de ce temps qui est le point le plus délicat de cette méthode. Il faut soumettre en même temps au réactif plusieurs préparations pour apprécier ainsi, par tâtonnements, l'état de la pellicule. Après ce procédé de fixation on obtient de belles colorations, surtout au point de vue de leur uniformité.

On peut employer de la même façon un *mélange à parties égales d'alcool absolu et d'éther* ou d'*alcool absolu* additionné suivant le cas d'un *sixième ou d'un tiers d'acétone*, préférable suivant Nicolle (1).

Comme conclusions, pour les liquides, employer couramment la fixa-

(1) Nicolle, Pratique des colorations microbiennes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1895, p. 664).

tion par le chauffage dans la flamme bleue d'un bec de Bunsen; pour les tissus, employer, comme méthode rapide, la fixation à l'alcool et, comme méthode délicate de recherches, la fixation, soit au liquide de Flemming, soit au sublimé, suivant les cas, et l'expérience personnelle aussi.

II. — Coloration des préparations.

Réactifs colorants.

Les Bactéries, déjà si pâles dans l'eau ou les liquides peu denses, se distinguent moins bien encore dans les milieux employés à la confection des préparations, dont la réfringence est égale à celle de leur corps cellulaire ou s'en approche. Sur de telles préparations, les contours paraissent parfois si peu nets, même à l'aide de forts objectifs, qu'il devient difficile de se rendre un compte exact des formes et des dimensions réelles de ces objets; le dessin en est difficile et la photographie souvent impossible. L'usage de substances colorantes a considérablement facilité ces recherches; aussi a-t-on à signaler de grands progrès dans l'étude de ces êtres inférieurs depuis l'emploi judicieux des méthodes de coloration.

1° Coloration par l'iode.

L'*iode*, qui teint si facilement en jaune les différentes parties de la cellule et en particulier le protoplasme, a été un des premiers réactifs de coloration employés. On peut s'adresser soit à l'eau iodée, soit à la teinture d'iode faible, à une solution iodo-iodurée ou au chlorure de zinc iodé, si employé dans les recherches d'anatomie végétale et qui paraît être la combinaison qui donne les meilleurs résultats. L'importance de ce réactif est toute spéciale quand les Bactéries contiennent de la matière cellulosique ou amylacée, qu'il peut colorer en bleu violet par formation d'iodure d'amidon; c'est ce qu'on observe à certaines phases du développement de plusieurs espèces, dont *Bacillus butyricus*, *Leptothrix buccalis*, *Sarcina ventriculi*.

2° Coloration par le carmin.

Les préparations de *carmin* ont servi, sans réussir cependant beaucoup. D'après Weigert (1), très bonnes pour la coloration des *Micrococcus*, elles sont à laisser de côté complètement pour celle des autres Bactéries.

3° Coloration par l'hématoxyline.

C'est également ce dernier auteur qui a recommandé l'*hématoxyline*, plus spécialement réservée pour teindre les tissus dans les doubles colorations. L'*extrait de bois de Campêche* a servi à Koch à rendre visibles les cils vibratiles de plusieurs espèces, et est employé par Loeffler comme mordant pour arriver au même but (p. 33).

(1) Weigert, Ueber Bakterien in der Pockenhaut (*Centralbl. für die med. Wissensch.*, 1881, n° 49).

4° Coloration par les couleurs d'aniline.

Les véritables colorants des Bactéries sont les *couleurs d'aniline*.

Ces matières dérivées de la houille, indiquées comme très bonnes par Weigert (1), furent surtout vulgarisées par Koch (2). Ehrlich (3) les classe en *couleurs basiques* et *couleurs acides*. Les couleurs basiques ou couleurs dans lesquelles la substance colorante joue le rôle de base combinée avec un acide incolore, possèdent en général une tendance à se localiser d'elles-mêmes et directement dans les noyaux, tandis que les couleurs acides ou couleurs dans lesquelles la substance colorante proprement dite joue le rôle d'un acide dans la combinaison, colorent d'une manière diffuse, ou se localisent principalement dans le cytoplasma et les substances intercellulaires.

Ces deux catégories, couleurs basiques, couleurs acides, ne correspondent pas exactement aux catégories techniques de colorants *nucléaires* et colorants *plasmatiques*. Vis-à-vis de ces couleurs, les Bactéries se comportent comme des noyaux.

Sont classées dans les couleurs *basiques* : la fuchsine, l'auramine, la chrysoïdine, la vésuvine (brun de Bismarck), le vert brillant, le vert malachite, le violet de méthyle, le violet de dahlia, le bleu Victoria, la safranine, le bleu de méthylène, le vert de méthyle, le violet de gentiane, la thionine.

Dans les couleurs *acides* : la fuchsine S, le violet S, les éosines, les fluorescéines, l'orange G, le vert lumière (Lichtgrün FS), l'acide picrique, le picrate d'ammoniaque, l'induline (nigrosine).

C'est donc aux matières colorantes de la première sorte qu'on aura à s'adresser, surtout pour les colorations journalières.

La coloration s'obtient d'ordinaire à l'aide de solutions aqueuses. L'emploi direct des solutions alcooliques est à rejeter, sauf cependant dans les cas où elles sont d'une absolue nécessité, à cause de l'intensité et surtout de l'uniformité des colorations qu'elles fournissent ; les premières, on le sait bien en histologie, ont une élection bien plus marquée. La plupart des matières colorantes employées sont solubles dans l'eau ; mais les solutions aqueuses présentent le grave inconvénient de mal se conserver, de ne pas s'opposer suffisamment au développement des Bactéries dans leur intérieur. D'où une cause d'erreur qu'il peut être fort important d'éviter. Il est à recommander de n'employer que des bains préparés extemporanément en ajoutant à la quantité d'*eau bien pure* nécessaire quelques gouttes d'une solution alcoolique concentrée, obtenue en saturant avec la couleur de l'alcool à 95° ou de l'alcool absolu. On obtient de cette façon des solutions de conservation irréprochable et d'usage très commode. Pour préparer le bain, il faut se servir d'eau récemment distillée ou d'eau filtrée que l'on conserve soigneusement,

(1) WEIGERT, Zur Technik der mikroskopischen Bacterien-Untersuchungen (*Virchow's Arch.*, Bd LXXXIV, p. 275).

(2) KOCH, Untersuchungen über Bacterien (*Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, III, et *passim* dans ses autres mémoires).

(3) EHRLICH, *Verhandl. der Berlin. phys. Gesellschaft*, 16 mai 1879. — Et : *Arch. für Anat. und Physiol.*, 1879, p. 571.

dans des vases stérilisés et bien bouchés, à l'abri de la contamination de l'air. L'eau qui sert à enlever l'excès de solution colorante, au *lavage* de la préparation, peut être de l'eau ordinaire ; si elle dépose des Bactéries étrangères sur la lamelle, celles-ci se reconnaîtront facilement par l'absence de coloration.

Ce n'est pas une précaution inutile de prendre de l'*eau distillée* pour faire les bains colorants. L'eau calcaire, par exemple, est contraire à certains colorants, la fuchsine, les verts, certains bleus ; la chaux précipite la base de ces colorants en grumeaux poisseux qui peuvent beaucoup gêner ou induire en erreur dans les préparations.

Pour les couleurs insolubles dans l'eau, il faut naturellement avoir recours à des solutions dans l'alcool ou d'autres véhicules.

La coloration se fait souvent à froid ; mais quand on veut fixer surtout le colorant sur des éléments qui doivent être soumis à une décoloration énergique et conserver néanmoins leur couleur, tandis que d'autres, voisins, se décolorent, ou qu'on a affaire à des Bactéries qui se colorent mal, on obtient souvent d'excellents résultats en chauffant le colorant vers 50 degrés. On y arrive aisément, à simple vue, en tenant quelques secondes, à distance d'une flamme, le verre de montre ou la capsule contenant le liquide préparé.

1° **Rouges**. — La *Fuchsine* (Fuchsin für Bacillenfärbung de Grübler) donne des colorations vives et durables. Les diverses *fuchsines basiques* commerciales paraissent également utilisables. On les distingue sous le nom de Fuchsine, Rubine, Magenta, Anilinroth, Roséine, selon les fabriques.

Certaines sont franchement rouges, d'autres légèrement violettes : les premières sont préférables pour obtenir des contrastes bien nets dans les doubles colorations avec le bleu de méthylène.

Il ne faut pas confondre ces couleurs avec les *fuchsines acides* : Fuchsine S, Säurefuchsin (Weigert), Rubin S, Säurerubin, Acid Magenta. Celles-ci ont des indications bien différentes.

Comme autres colorants rouges répondant à des besoins spéciaux, nous citerons : les *éosines solubles dans l'eau* ; le *rouge Congo*, une des couleurs les mieux tolérées par les cellules vivantes, parfois utile pour démontrer la présence d'acide libre, mais malheureusement se conservant mal ; l'*érythrosine* qui, ainsi que l'éosine, peut très facilement servir à transformer les plaques photographiques ordinaires au gélatino-bromure en plaques orthochromatiques ; enfin et surtout ces colorants nucléaires si électifs et si solides, la *Phénosafranine* et la *Safranine SO* (wasserlöslch de Grübler).

2° **Violets**. — Le *violet de gentiane*, le *violet dahlia*, la *thionine*, le *violet de méthyle 5B et 6B*, *hexaméthylviolet*, *Krystallviolet* sont tout aussi recommandables pour un usage journalier comme beauté et comme durée que les fuchsines basiques. Ils possèdent même, à l'encontre de la fuchsine et du bleu de méthylène, la propriété d'être fixés par l'iode sur certains microbes au point de permettre une décoloration ultérieure d'autres éléments par des agents d'extraction énergiques.

3° **Bleus**. — Le plus utilisé est le *Bleu de méthylène*, très vanté par

Ehrlich (1) et par Kühne. A la longue cependant il se décolore. De plus, la coloration n'est pas très intense. Pour des études fines de morphologie, c'est, avec le vert de méthyle, le réactif capable de rendre le plus de services, si on le choisit bien pur, par exemple, le bleu recommandé par Ehrlich (Methylen Blau-Reactif zu Injectionen in vitale Gewebe, du Dr Grübler) ou encore celui recommandé par Apathy (Medicinische Methylenblau chemisch rein und chlorzinkfrei de Merck de Darmstadt).

Ce bleu colore en violet les *Plasmazellen* et, d'après Babès, en rouge certains éléments à l'intérieur de divers microbes dont le corps se teint en bleu.

Le *Bleu Victoria*, colorant basique, peut être avantageusement associé à la Fuchsine S.

Le *Bleu de toluidine* donne d'excellents résultats en solution aqueuse.

4° **Bruns et Orange.** — Le *Brun de Bismarck* (Vésuvine, Phenylenbraun, Manchesterbraun, Anilinbraun) introduit par Koch (2) dans la technique bactériologique, est utile pour les préparations à monter dans la glycérine et a rendu des services pour la photographie; actuellement on photographie facilement les rouges et les violets avec les plaques isochromatiques (p. 146). C'est une couleur basique, utilisée, de même que le bleu de méthylène et la fuchsine acide, comme *colorant vital.*

L'*Orange G*, couleur acide, est capable de fournir de beaux contrastes comme l'éosine et le vert lumière.

5° **Verts.** — On emploie le *vert lumière* et le *vert de méthyle*. Le *vert lumière* (Lichtgrün FS ou Sauregrün) est un colorant acide, utilisable pour décolorer une préparation tout en colorant le fond, tandis que le *vert de méthyle* est un colorant nucléaire extrêmement précieux pour les détails de structure des grandes espèces.

Malheureusement, ces verts ne sont pas très stables.

Dans la recherche des Bactéries dans les tissus, Kühne l'emploie en solution dans l'huile d'aniline pure. Guignard s'est avantageusement servi d'un mélange de vert de méthyle OO avec la Fuchsine S.

6° **Noirs.** — Ces couleurs sont d'un emploi très restreint. Künstler (3) recommande le *Noir Colin* pour la coloration des cils vibratiles des Spirilles.

L'*Induline*, probablement identique à la *Nigrosine* (wasserlöslich) est un colorant basique d'un beau contraste avec les rouges, et de plus est précieuse pour marquer les limites cellulaires et différencier le mucus de la fibrine.

Comme ces couleurs d'aniline ne constituent pas toutes des composés chimiques bien définis (ex. le Kernschwarz, etc.), qu'elles varient absolument selon leur mode de fabrication, que ces procédés de fabrique même changent continuellement, les résultats peuvent être fort dissem-

(1) Ehrlich, Technik des Bacterien-Untersuchung (*Zeitschr. für klin. Med.*, I et II).

(2) Koch, Untersuchungen über Bacterien (*Beitr. zür Biol. der Pflanzen*, III, 3e p., p. 55).

(3) Kunstler, Contributions à la technique des Bactériacées (*C. R. de l'Acad. des sc.*, t. CV, 1887, p. 689).

blables. Un auteur sérieux doit toujours (à l'exemple de Kühne) en indiquer exactement la marque, la provenance, pour qu'on puisse s'y conformer. On peut se procurer de bons colorants chez le Dr Grübler (Leipzig, Bayersche Strasse, 63), Carl Zeiss, à Berlin, ou le Dr G. Münder (Göttingen).

Les solutions aqueuses ne suffisent pas à colorer certaines espèces qui ne se laissent que difficilement imprégner par la substance colorante. Lorsqu'on fait agir, avant la coloration ou concurremment à elle, certains réactifs qui semblent diminuer la résistance de la membrane, on parvient à obtenir de meilleurs résultats. Les alcalis réussissent tout particulièrement dans ce cas; on simplifie beaucoup la technique en les ajoutant directement au bain colorant, dont ils exaltent considérablement la puissance. Dans des cas spéciaux, on a obtenu d'excellents résultats de certaines substances qui jouent probablement le rôle de mordant; le tannate de fer, l'extrait de bois de Campêche, ont été employés dans ce but par Loeffler. Ohlmacher (1) recommande également le formol à 4 p. 100 soit dans le colorant soit avant. Des mélanges de différentes couleurs donnent aussi parfois d'excellents résultats.

5° Solutions colorantes composées.

C'est Koch (2) qui a introduit l'usage des *solutions alcalines*; elles l'ont conduit à la découverte du *Bacille de la tuberculose*. Il employait le mélange suivant :

Solution alcaline de Koch.

Solution alcoolique concentrée de bleu de méthylène.	1 volume.
Solution de potasse à 10 p. 100....	2 volumes.
Eau distillée..	200 —

Le liquide doit être filtré avant l'usage; il s'altère vite et ne peut conséquemment servir plusieurs jours.

Loeffler (3) recommande la formule suivante, plus facile à préparer extemporanément :

Solution alcaline de Loeffler.

Solution alcoolique concentrée de bleu de méthylène....	1 volume.
Solution de potasse à 1 : 10 000.........................	2 volumes.

La puissance colorante de ces solutions alcalines est considérable. Elles ont cependant de graves inconvénients : elles gonflent par trop certaines préparations et peuvent arriver à détacher des lamelles la mince couche obtenue par dessiccation des liquides, ceux riches en albumine surtout; enfin, elles altèrent souvent les éléments histologiqnes délicats. Aussi sont-elles réservées dans la pratique pour des cas spé-

(1) Ohlmacher, *Med. News*, 16 février 1895.
(2) Koch, Die Aetiologie des Tuberculose (*Berl. klin. Wochenschr.*, 1882).
(3) Loeffler, Untersuchung über die Bedeutung der Microorg. für die Entstehung der Diphterie (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, 1884).

ciaux et remplacées par l'*eau anilinée*, indiquée par Ehrlich (1) et en grande faveur depuis près des bactériologistes. Elle se prépare en ajoutant à de l'eau distillée une petite quantité d'aniline pure (huile d'aniline, phénylamine), assez peu soluble dans l'eau, puisqu'à 12° une partie d'aniline exige trente et une parties d'eau pour se dissoudre. Pour 100 centimètres cubes d'eau distillée, 3 grammes d'aniline suffisent. On agite fortement et on passe sur un filtre mouillé qui retient les gouttelettes non dissoutes. La liqueur brunit vite à l'air, l'aniline se résinifiant facilement ; il faut alors la rejeter. Il est toujours préférable de la préparer au moment de l'utiliser en agitant, dans un tube à essai, quelques gouttes d'aniline à une petite quantité d'eau distillée et en filtrant sur un papier mouillé. Les résultats obtenus avec les solutions fraîches sont bien plus complets.

Solution anilinée d'Ehrlich.

Eau anilinée	10 centimètres cubes.
Solution alcoolique saturée de violet de gentiane	1 centimètre cube.

Le violet de gentiane peut être remplacé par le violet 5B ou la fuchsine.

Fraenkel (2) prépare une *eau anilinée* de conservation assez satisfaisante en ajoutant une petite proportion d'alcool. Il dissout 3 centimètres cubes d'aniline dans 7 centimètres cubes d'alcool absolu et complète avec 90 centimètres cubes d'eau distillée. On s'en sert comme de l'eau anilinée ordinaire.

On emploie encore d'autres corps comme mordants.

Weigert (3) a proposé l'*ammoniaque* :

Solution de Weigert.

Ammoniaque liquide	0gr,50
Alcool absolu	10 grammes.
Eau	100 —

Ajouter quantité suffisante de violet ou de fuchsine.

Ziehl (4) recommande l'*acide phénique* avec la fuchsine donnant le *Rouge de Ziehl* :

Solution de Ziehl.

Acide phénique cristallisé	5 grammes.
Alcool	10 —
Fuchsine	0gr,25
Eau distillée	100 —

(1) Ehrlich, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1882, n° 19.

(2) Fraenkel, Ueber die Färbung der Koch'schen Bacillus (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1880, n° 13).

(3) Weigert, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1888, p. 351.

(4) Ziehl, Zur Färbung der Tuberkelbacillus (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1882 et 1883).

Solution de Ziehl (autre formule).

Fuchsine, rubine	1 gramme.
Acide phénique neigeux	5 grammes.
Alcool absolu	10 —
Eau distillée	100 —

Triturer dans un petit mortier de verre la fuchsine et l'alcool; ajouter l'acide phénique, mélanger; ajouter par petites portions, en continuant de remuer, les deux tiers de l'eau; verser dans un flacon, rincer le mortier avec le reste de l'eau; réunir les liquides. Laisser en contact vingt-quatre heures; filtrer dans un flacon propre bouché à l'émeri.

Cette solution donne très souvent d'excellents résultats.

Nicolle (1) dit beaucoup de bien de la *thionine phéniquée* :

Solution de thionine phéniquée.

Solution saturée de thionine dans l'alcool à 90°.	10 centimètres cubes.
Eau phéniquée à 1 p. 100	100 — —

Gram a préconisé l'*iode* comme mordant ou fixateur des colorants; comme l'emploi de l'iode est toujours uni à l'action décolorante de l'alcool, nous retrouverons plus loin sa méthode de coloration.

Bleu de toluidine.

Bleu de toluidine	0gr,5
Eau phéniquée à 2 p. 100	100 grammes.
Alcool à 90°	10 —

Bleu de Kühne.

Bleu de méthylène	1gr,5
Alcool absolu	10 grammes.
Eau phéniquée à 5 p. 100	100 —

Le *Bleu composé de Roux* donne de très bons résultats également, surtout avec le *Bacille de la diphtérie*; il s'obtient par le mélange de deux solutions, une de violet, l'autre de vert d'aniline.

On mélange un tiers de la solution A et deux tiers de la solution B.

Bleu de Roux.

Solution A :	Violet dahlia	1 gramme.
	Alcool à 90°	10 grammes.
	Eau distillée	90 —
Solution B :	Vert de méthyle	1 gramme.
	Alcool à 90°	10 grammes.
	Eau distillée	100 —

Sahli (2) prend comme mordant une *solution de borax* à 1 gramme pour 60 d'eau. Babès (3) a remplacé l'aniline par la *toluidine*. Aucune de ces modifications n'a prévalu sur le procédé primitif d'Ehrlich.

(1) Nicolle, Pratiques des colorations microbiennes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 664).
(2) Sahli, *Zeitschr. für wiss. Mikrosk.*, II, 1885.
(3) Babès, Étude sur les Bactéries de la lèpre et de la tuberculose (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1883).

L'*eau anilinée*, colorée à l'aide d'une solution concentrée de fuchsine, de violet ou de bleu, s'emploie la plupart du temps à chaud ; c'est une manière de renforcer encore son action. On fait chauffer dans un tube à essai ou dans un verre de montre une dizaine de centimètres cubes d'eau anilinée à laquelle on a ajouté de 4 à 6 gouttes de solution alcoolique concentrée de matière colorante, jusqu'à ce qu'il se dégage des vapeurs; on y place alors les objets à colorer.

La teinte à donner au bain colorant, lorsqu'on le prépare directement avec les solutions alcooliques concentrées, s'acquiert très vite après un peu de pratique; quelques gouttes d'une solution alcoolique saturée ou très concentrée suffisent à colorer convenablement de 10 à 15 centimètres cubes de liquide. Le temps que doit durer l'immersion dans ce bain varie avec la nature des préparations, sans qu'il soit possible à cet égard de donner des règles générales. Tandis que quelques minutes peuvent suffire, il faut d'autres fois un temps beaucoup plus long pour obtenir une bonne coloration. Il est heureusement facile de suivre les progrès du réactif en retirant de temps en temps la préparation; on s'aperçoit facilement, même à l'œil nu, de l'intensité de la teinte prise. Enfin une surcoloration n'est souvent pas sans remède; on la réduit facilement en faisant agir les *agents décolorants*.

Les mains tachées par l'usage de ces bains de couleurs d'aniline sont décolorées facilement par l'alcool, l'alcoolé de savon, les acides étendus.

6° Emploi des agents décolorants.

Lorsqu'on traite des objets colorés par certains réactifs très avides de couleur, ils leur abandonnent une proportion de la matière qui les teint et se décolorent d'autant; il peut même arriver, si la couleur n'est pas fortement retenue, que la décoloration soit complète. Dans d'autres cas, il y a plus : le réactif peut modifier ou détruire la substance colorante ; et il le fait toujours d'autant mieux et plus vite que la combinaison de celle-ci avec l'élément qu'elle imprègne est moins forte. C'est une relation en tout analogue aux lois de Berthollet. Pour les Bactéries, il semble y avoir un rapport direct entre la facilité de la coloration et celle de la décoloration ; des cellules qui se colorent très rapidement dans les bains ordinaires, perdent tout aussi vite leurs nuances traitées par des agents décolorants, et, inversement, lorsque l'action du bain a dû être prolongée, la coloration obtenue résiste beaucoup plus. On ne connaît pas encore les causes de ces particularités; on pense que la résistance à la décoloration, si remarquable chez certaines espèces, est due à la présence dans la membrane ou le protoplasma de substances particulières formant avec les couleurs des composés très stables. Ce serait une matière grasse pour le *Bacille de la syphilis* (1), pour le *Bacille du smegma*; du tannin (2) pour d'autres espèces. D'après Straus (3), le *Bacille de la tuberculose* contient une substance spéciale bien distincte des graisses, douée de la

(1) Bienstock, Zur Frage der sog. Syphilisbacillen und der Tuberkelbacillen-Färbung (*Fortschr. der Med.*, 1886, n° 6). — Gottstein, Die Beeinflussung des Färbungsverhaltens von Microorganismen durch Fette (*Ibid.*, n° 8).

(2) Spina, Recherches sur la décoloration des Bactéries (*Allgem. Wiener med. Zeit.*, 1887).

(3) Straus, La tuberculose et son bacille. Paris, 1895, p. 159.

propriété de retenir énergiquement les couleurs d'aniline, qui lui permet de manifester sa réaction particulière à l'égard des colorants.

Les *agents décolorants* les plus usités sont, par ordre d'importance, l'alcool, les acides, les alcalis et certains réactifs neutres.

1° Décoloration par l'alcool.

L'*alcool* est certainement celui qui servira le plus. On emploie l'alcool à 95° ou mieux l'alcool absolu. La rapidité de la décoloration est très variable ; parfois la lamelle doit être simplement plongée dans l'alcool, puis retirée immédiatement et lavée à grande eau pour arrêter de suite l'action du réactif, ou bien elle doit y séjourner pendant un temps assez long, parfois un jour et plus, pour que l'effet voulu soit produit. Lorsque la décoloration est rapide, il est préférable d'user d'alcool dilué, pour pouvoir mieux graduer l'emploi du réactif.

On peut renforcer la puissance décolorante de l'alcool en lui ajoutant 2 p. 100 de fluorescéine jaune acide (Kühne) ou 0,25 p. 100 de vert lumière (Lichtgrün FS) (Benda).

Méthode de Gram. — L'alcool après action de l'iode a été préconisé par Gram (1) ; cette technique est très connue sous le nom de *méthode de Gram*. L'iode sert plutôt de fixatif ou de modificateur pour le colorant ; la décoloration vraie est produite par l'action ultérieure de l'alcool. Voici la formule qu'il indique pour user de ce réactif :

Solution de Gram.

Iode	1 gramme.
Iodure de potassium	2 grammes.
Eau distillée	300 —

Les préparations, sorties du bain colorant, sont, après lavage à l'eau, plongées dans cette solution jusqu'à ce qu'elles prennent une teinte noirâtre, ce qui demande une à deux minutes. Elles sont lavées à l'alcool absolu jusqu'à ce que la teinte noire devienne gris pâle, ce qui s'obtient en quelques minutes ou lentement. Cette *méthode de Gram* est surtout à appliquer aux colorations obtenues à l'aide d'eau anilinée colorée aux violets. Ce procédé expose moins que le précédent à une forte décoloration ; de plus, il fournit des caractères de détermination précieux : certaines espèces, se décolorant bien par son emploi, se distinguent par là d'autres qui, traitées de la même façon, gardent la couleur. Dans une préparation où se trouvent des cellules, coupe d'organe ou lamelle préparée à sec avec du sang ou du pus, les éléments ne gardent qu'une légère coloration jaunâtre, tandis que les Bactéries sont fortement colorées en violet noir lorsqu'on a usé d'un bain au violet ; il est du reste possible, comme nous le verrons, d'user ensuite d'une double coloration.

Méthode de Gram modifiée par Nicolle. — Nicolle (2) a modifié avantageusement la méthode de Gram ainsi qu'il suit. Les lamelles,

(1) Gram, Ueber die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt und Trockenpraeparaten (*Fortschr. der Med.*, II, 1884, p. 185).

(2) Nicolle, Pratique des colorations microbiennes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 664).

fixées par le mélange d'alcool et d'éther, sont colorées à la *solution de thionine phéniquée* (p. 297). Au sortir du bain colorant, *sans être lavées*, elles sont soumises à l'action d'une solution de Gram forte :

Solution de Gram forte.

Iode	1 gramme.
Iodure de potassium	2 grammes.
Eau distillée	200 —

On les laisse dans la solution de quatre à six secondes, mais en la renouvelant une ou deux fois. On décolore par l'*alcool-acétone* (alcool absolu additionné d'un tiers d'acétone), qui décolore plus vite et plus sûrement que l'alcool absolu.

Cette méthode de Gram, simple ou modifiée, a une importance considérable en Bactériologie. C'est un élément de *diagnostic* important : les Bactéries qui *prennent le Gram* sont ainsi facilement différenciées d'autres qui *ne le prennent pas* et qui peuvent leur ressembler beaucoup comme formes, comme caractères de cultures et même comme réactions à l'égard des colorants ordinaires. Voici la liste des principales espèces dont il est important de connaître la façon de réagir lorsqu'on leur applique cette méthode :

Bactéries qui restent colorées par la méthode de Gram.

Staphylocoque doré.
Staphylocoque blanc.
Pneumocoque.
Streptocoque pyogène (1).
Microcoque tétragène.
Bacille de la tuberculose.
Bacille du charbon.
Bacille du tétanos.
Bacille du charbon symptomatique.
Bacille de la lèpre.
Bacille du rouget du porc.
Bacille de la septicémie de la souris.
Bacille du rhinosclérome.
Actinomyces (filaments, quelquefois les massues très jeunes).
Bacille de la diphtérie (se décolore un peu).
Bacille violet.
Bacille du lait bleu.
Bacille lactique de Hueppe.
Proteus vulgaris.
Bacillus Zopfii.
Bacillus mycoides.
Bacillus subtilis.
Bacillus mesentericus vulgatus.
Bacillus mesentericus fuscus.
Bacillus mesentericus ruber.
Bacillus megaterium.
Cladothrix asteroides.
Cladothrix Maduræ.
Cladothrix chromogenes.
Leptothrix epidermidis.
Leptothrix buccalis.

Bactéries qui se décolorent par la méthode de Gram.

Microcoque du Choléra des poules.
Gonocoque.
Pneumobacille.

(1) Nous verrons plus loin, en étudiant le *Streptocoque pyogène*, qu'Étienne (*Arch. de méd. expér.*, 1895) et Lemoine (*Soc. de Biol.*, 21 décembre 1895) ont signalé des Streptocoques se *décolorant* par la méthode de Gram. Le dernier auteur cité a vu, dans des cultures différentes, le même microbe présenter la réaction habituelle et rester coloré par le Gram.

Diplocoque de la méningite cérébro-spinale (resterait quelquefois coloré sur lamelles).
Bacille typhique.
Bacillus enteritidis.
Bacillus enteritidis sporogenes de Klein.
Colibacille.
Bacillus lactis aerogenes.
Bacille de la morve.
Bacille de l'ozène.
Bacille pyocyanique (positif pour certains).
Vibrion septique.
Bacillus fluorescens liquefaciens.
Bacillus fluorescens putridus.
Bacillus butyricus de Botkin.
Bacille de la septicémie du lapin.
Bacille de la peste porcine.
Bacille de la peste bovine.
Bacille de la septicémie spontanée des lapins.
Spirille du choléra.
Bacillus cæruleus de Voges.
Micrococcus prodigiosus.
Spirillum concentricum.
Spirillum rubrum.
Bacille de l'influenza.
Bacille de la peste bubonique.
Bacille ictéroïde.
Bacillus botulinus.
Bacille du farcin du bœuf.
Bacille du chancre mou.
Diplobacille de la conjonctivite.
Bacille de la pseudo-tuberculose des rongeurs de Pfeiffer.

Il y a certainement des espèces pour ainsi dire indifférentes à l'égard de la méthode de Gram, qui restent colorées dans certaines conditions et se décolorent dans d'autres. C'est ce qui peut expliquer en partie les divergences que l'on remarque dans l'opinion de bien des auteurs.

2° Décoloration par les acides.

Les *acides minéraux* sont des décolorants trop énergiques qui doivent être réservés pour quelques cas spéciaux. De rares espèces, les *Bacilles de la tuberculose*, *de la lèpre*, *du smegma préputial*, par exemple, résistent seuls à leur action et gardent leur couleur. D'où l'importance de cette méthode de décoloration dans la recherche de ces espèces. Ehrlich (1) a annoncé le premier que le *Bacille de la tuberculose* résistait à l'action de l'acide azotique au tiers (acide azotique ordinaire, 1 partie ; eau, 2 parties). L'usage de ce décolorant est devenu dès lors d'une pratique courante dans la recherche de cette espèce. L'action doit toutefois être suivie de très près, car la résistance n'est que relative ; si le contact est trop prolongé, toute coloration, même la plus intense, ne tarde pas à disparaître. L'acide azotique forme avec les couleurs d'aniline des composés incolores, c'est la raison de la décoloration qu'il provoque. Avant d'en arriver à ce dernier terme, il se produit des nuances verdâtres, puis jaunes. Il faut arrêter l'effet à l'apparition du vert, ou tout au moins dès les premières nuances jaunes, par un lavage immédiat. Sous l'influence de l'eau, une faible partie du colorant se régénère, la préparation reparaît très légèrement teintée de la nuance primitive. On peut, du reste, faire agir le réactif à plusieurs reprises, jusqu'à ce que le résultat soit obtenu.

Au lieu d'acide nitrique, on a employé l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique dilués, l'acide sulfureux, l'acide acétique cristallisable pur

(1) Ehrlich, *Zeitschr. für klin. Med.*, II, p. 307, et *Berlin. klin. Wochenschr.*, 6 mai 1882.

ou dissous dans l'alcool. Hauser (1) préfère comme décolorants, à l'acide nitrique, surtout pour la recherche du *Bacille de la tuberculose*, les acides organiques, acétique, tartrique, picrique et, principalement, lactique. Dans les solutions de 5 à 10 p. 100, la décoloration se fait bien ; le Bacille de la tuberculose résiste toutefois pendant fort longtemps, pendant une demi-heure au moins.

3° Décoloration par d'autres réactifs.

Koch a employé comme décolorant une solution de *carbonate de potasse*, obtenue en mélangeant une solution saturée de ce sel avec un même volume d'eau distillée. Malassez et Vignal (2) se sont servis de carbonate de soude ainsi préparé :

Solution aqueuse de carbonate de soude à 2 p. 100.......	2 volumes.
Alcool absolu..	1 volume.

Le *sublimé corrosif* a donné à Gram de bons résultats, qu'il faut se garder de confondre avec ceux obtenus à l'aide de sa solution iodée, dont l'emploi doit seul être désigné sous le nom de *méthode de Gram*. Les préparations, surtout les coupes, bien lavées à l'eau distillée après coloration, sont placées dans une solution de sublimé à 1 p. 100. On les y laisse séjourner quelque temps et on les lave à l'eau distillée d'abord, puis avec un peu d'alcool absolu. Le sublimé joue plutôt un rôle de fixateur ; c'est l'alcool qui est le décolorant actif.

La *glycérine*, les *essences de girofle* et *de bergamote*, décolorent peu à peu les Bactéries, mais leur action est trop lente et trop inégale pour l'utiliser d'une façon courante. Il faut y songer cependant quand on a à traiter des préparations par ces réactifs, comme éclaircissants ou conservateurs.

Le chlorhydrate d'aniline, en solution aqueuse à 2 p. 100, est un bon agent décolorant, mais d'emploi un peu coûteux parce qu'il ne faut employer que des solutions fraîches.

Méthode de Claudius. — Claudius (3), après fixation à l'acide picrique, emploie comme décolorant le chloroforme ou l'essence de girofles.

La lamelle, séchée et flambée, est colorée dans une solution de violet de méthyle (violet de méthyle 5B extra, Merck) pendant une minute, puis lavée à l'eau ; elle est ensuite soumise pendant une minute à l'action d'une solution d'acide picrique dans l'eau distillée, formée de 1 volume d'une solution saturée, plus 1 volume d'eau, lavée et étanchée au papier-filtre ; on lave au chloroforme tant qu'il y a décoloration (l'opération se fait économiquement dans une petite fiole à large goulot, bouchée à l'émeri. Il est possible de remplacer le chloroforme par l'application successive de quelques gouttes d'essence de girofles, jusqu'à décoloration complète.

(1) Hauser, Note sur la coloration du Bacille de la tuberculose (*Soc. de Biol.*, 29 octobre 1898).

(2) Malassez et Vignal, Sur le microorganisme de la tuberculose zoogléique (*Arch. de phys.*, IV, 1884).

(3) Claudius, Méthode de coloration à la fois simple et contrastante des microbes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 332).

Voici, d'après Claudius, une liste d'espèces qui *restent colorées* par cette méthode.

Staphylocoque doré.
Staphylocoque blanc.
Pneumocoque.
Bacille de la diphtérie.
Bacille du charbon.
Bacille du rouget du porc.
Bactérie du farcin du bœuf.
Tétragène.
Bacille du tétanos.
Bacille de la lèpre.
Bacille de la tuberculose (prend mal la couleur).
Bacillus megaterium.
Bacille de la septicémie de la souris.
Bacille du charbon symptomatique.
Vibrion septique.
Bacillus nekroseos de Bank.

Par contre, les espèces suivantes *ne restent pas colorées* :

Bacille typhique.
Colibacille.
Spirille du choléra.
Spirille de Metschnikoff.
Pneumobacille.
Gonocoque.
Bacille du lait bleu.
Bacille pyocyanique.
Micrococcus prodigiosus.

Le même traitement peut être appliqué aux coupes, préalablement collées sur lamelles ; il est préférable d'employer comme décolorant l'essence de girofles par gouttes successives enlevées avec du papier buvard. Ce procédé est compatible avec une coloration préalable des noyaux, par le carmin au lithium par exemple.

Cette méthode de Claudius paraît donner des résultats plus constants que la véritable méthode de Gram.

Méthode de Weigert. — Weigert (1) emploie l'*huile d'aniline* comme décolorant. Les préparations ou les coupes sont colorées à chaud dans un bain de violet, puis soumises pendant trois ou quatre minutes à l'action de la solution iodo-iodurée de Gram. Il traite par l'huile d'aniline jusqu'à transparence parfaite ; l'huile extrait une grande partie du violet. La préparation est immergée dans le xylol, puis montée dans le baume.

Enfin, des solutions d'*autres couleurs d'aniline* peuvent déplacer une couleur qui n'est pas très fortement fixée et substituer leur coloration. On obtient alors des *colorations de contraste* ; la couleur employée en dernier chasse la première coloration sur les éléments qui ne retiennent pas énergiquement leur première nuance. Ainsi, dans une préparation de crachats tuberculeux colorés à la fuchsine par la méthode d'Ehrlich à l'eau anilinée, puis plongée dans la solution bleue de Loeffler, le bleu de méthylène chasse la fuchsine qui imprègne les éléments et les Bactéries des crachats, sauf celle que fixent les *Bacilles tuberculeux* qui resteront colorés en rouge. Le bleu de méthylène cède de la même façon au brun de Bismarck.

Qu'on se serve de l'un ou de l'autre de ces différents procédés de coloration, l'action du réactif ne se fait que progressivement : les éléments les moins avides de couleur la cèdent avant ceux qui la retiennent mieux. En arrêtant donc cette action à différents stades, on obtiendra

(1) Weigert, Zür Technik der bacteriologischen Untersuchungen (*Virchow's Arch.*, Bd LXXXIV).

des aspects divers, certains éléments colorés dans telle préparation seront incolores ou diversement nuancés dans d'autres. Lorsqu'on a affaire à des coupes d'organes où se trouvent des éléments variés, le phénomène suit une marche à peu près régulière. Ainsi, une coupe colorée d'une façon diffuse par une immersion dans le bain de violet de méthyle, traitée par l'alcool absolu, se décolorera graduellement de la façon suivante : la substance intercellulaire perd d'abord sa couleur, puis les fibres conjonctives, le protoplasma des cellules, les noyaux et en dernier lieu les Bactéries.

7° Double coloration.

Lorsqu'une préparation a subi l'action des réactifs décolorants, il est facile, en faisant agir d'autres substances colorantes, de teindre d'une nuance différente de la première employée les éléments qui ont perdu la couleur. On peut obtenir ainsi dans cette *double coloration*, par un choix habile des couleurs, des contrastes très utiles pour l'observation de la préparation, et la distinction des diverses espèces de Bactéries qui s'y trouvent. De plus, quand il n'existe que de rares Bactéries ayant gardé la première couleur employée, la mise au point s'opère avec bien plus de facilité, chose qui n'est pas à dédaigner, on pourra s'en assurer.

Koch s'est servi le premier d'une méthode de *double coloration* pour distinguer les *Bacilles de la tuberculose* des autres espèces qui les accompagnent toujours dans les crachats. Il a mis à profit cette observation qu'il avait faite, qu'en plongeant une lamelle préparée, fortement colorée au bleu de méthylène à l'aide d'une solution alcaline, dans un bain de vésuvine, cette dernière couleur se substituait en partie à la première, qui ne restait fixée que sur les Bactéries de la tuberculose.

Il est plus sûr de soumettre la préparation à un agent décolorant, en opérant comme on l'a vu précédemment. Après action complète du réactif, elle est lavée avec soin et mise dans le second bain, où elle ne doit rester que peu de temps. La seconde coloration, *coloration de fond*, gagne à être légère ; les éléments histologiques surtout doivent être simplement teintés ; aussi faut-il surveiller de près l'immersion qui ne doit durer que fort peu de temps, quelques secondes souvent si le bain colorant est foncé.

Pour répondre au mieux au but proposé, les couleurs à employer doivent produire un contraste bien évident. Koch a employé le bleu et le brun ; ils peuvent encore être utiles pour des cas spéciaux, comme la photographie. On obtient de fort bonnes préparations en colorant d'abord à la fuchsine et en se servant de bleu de méthylène comme couleur de fond. On a souvent avantage à employer comme *colorants diffus*, le *vert lumière* (*Lichtgrün FS*), le *violet acide* (*Saüreviolett*), la *fuchsine acide* (*Fuchsine S* ou *Saürerubin*), l'*orange G* et particulièrement l'*éosine*.

Il ne faut prendre que l'*éosine* soluble dans l'eau. C'est un colorant des plus énergiques et très pénétrant, mais qui ne possède pas la moindre élection. Aussi fournit-elle de très beaux fonds rose rouge sur lesquels les bleus et les violets se détachent admirablement. Les mélanges de bleu de méthyle et d'éosine donnent souvent de belles

doubles colorations faisant voir nettement les différences qui existent dans le contenu cellulaire (1).

La coloration de fond peut du reste varier suivant le désir de l'observateur ; elle s'obtient, pour les violets, avec l'éosine ou certains carmins à coloration rouge; pour la fuchsine, avec l'hématoxyline ou le bleu de méthylène; pour le bleu de méthylène, avec l'éosine, la safranine, qui donnent des teintes rosées.

8° Recherche des Bactéries dans les tissus.

La recherche des Bactéries dans les tissus nécessite l'obtention de coupes très fines qui doivent être soumises aux différents procédés de coloration exposés ci-dessus pour la coloration des lamelles chargées de Bactéries, procédés qui peuvent être modifiés dans divers sens à cause de la présence d'éléments que l'on a souvent à faire valoir.

Les tissus doivent être fixés *aussi frais que possible* selon une des méthodes exposées page 290, puis durcis dans les alcools et coupés avec ou sans inclusions. On ne doit généralement fixer que de petits morceaux de tissus.

La coloration se fait avant les coupes (coloration en masse) ou après, sur les coupes faites.

Pour l'obtention de coupes sériées ou de coupes très fines, il est nécessaire d'inclure à la paraffine ; il faut inclure de même si l'on désire amasser, pour une étude ultérieure, un grand nombre de matériaux que pourrait altérer un séjour prolongé dans les liquides conservateurs.

Les inclusions au *collodion* ou à la *celloïdine* peuvent aussi rendre des services; cependant il faut reconnaître qu'en Bactériologie la *méthode des coupes par congélation*, si vantée par Kühne (2), est bien souvent la plus utile.

Pour colorer les éléments des tissus, on s'adressera de préférence aux colorants histologiques habituels, surtout à l'*hématoxyline* et aux préparations de *carmin*, lorsqu'une élection sera à rechercher. Parmi les solutions hématoxyliques, celle de Delafield est à recommander. *Hématoxyline de Delafield :* à 400 grammes d'une solution saturée d'ammoniaque dans l'eau, on ajoute 4 grammes d'hématoxyline cristallisée dissoute dans 25 centimètres cubes d'alcool à 95 degrés. On laisse le tout exposé à l'air et à la lumière pendant trois ou quatre jours, on filtre et on ajoute 100 centimètres cubes de glycérine et 100 centimètres cubes d'alcool méthylique. On laisse au repos et, lorsque la solution est devenue très foncée, on filtre et conserve dans des flacons bien bouchés. C'est un colorant très puissant qui doit être étendu d'une grande quantité d'eau. Il colore les tissus en violet noir ou bleuâtre et est un excellent colorant de fond avec la fuchsine.

Les différentes solutions de carmin, dont on trouvera la préparation en grands détails dans les ouvrages de technique microscopique (3),

(1) Ziemann, Eine methode der Doppelfärbung bei Flagellaten, Pilze und Bakterien, sowie einigen Amöben (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 945). — Zetnow, Romanowski's Färbung bei Bakterien (*Zeitschr. für Hygiene*, XXX, 1899, p. 1).

(2) Kühne, Recherche des Bactéries dans les tissus animaux. Paris, Carré, 1889.

(3) Voy. surtout Bolles Lee et Henneguy, Traité des méthodes techniques de l'anatomie microscopique, 2e édit. Paris, Doin, 1896.

donnent d'excellentes colorations de coupes, combinées avec le bleu de méthylène ; la formule suivante est très recommandable :

Carmin de Orth (Carmin lithiné).

Solution aqueuse saturée à froid de carbonate de lithine.....	Q. S.
Carmin pulvérisé..	2gr,50

On ajoute avantageusement un dixième d'alcool à 95° (carmin de Orth alcoolisé).

Méthode de Gram appliquée aux coupes. — On porte les coupes, à l'aide d'une spatule, dans la solution d'iode, après les avoir colorées en violet foncé dans un bain de violet de gentiane ou de thionine. On décolore *à fond* par l'alcool absolu. Pour obtenir une coloration de fond, on emploie alors un bain aqueux faible d'éosine, de brun de Bismarck, d'hématoxyline, de carmin ou picrocarmin.

Méthode de Nicolle-Gram. — Nicolle recommande un procédé de triple coloration obtenue de la façon suivante : la coupe est débarrassée de la paraffine à l'aide du xylol, puis mise dans l'alcool absolu pour enlever le xylol. Elle est laissée un quart d'heure dans le carmin de Orth alcoolisé. Laver à l'eau. Faire agir la solution de violet phéniqué de quatre à six secondes en la renouvelant une ou deux fois. Décolorer par l'alcool-acétone au tiers. Passer rapidement dans l'*alcool picrique* (alcool à 95° additionné d'une trace d'acide picrique, de façon à obtenir une coloration jaune verdâtre très pâle). Déshydrater par l'alcool absolu, xylol et baume du Canada.

Méthode de Kühne-Gram (1). — Les coupes se trouvant dans l'alcool sont portées dans un bain de bleu, obtenu en ajoutant une certaine quantité de solution alcoolique concentrée à de l'eau phéniquée à 5 p. 100 ou à une solution de carbonate d'ammoniaque à 1 p. 100. La coloration demande un temps variable ; elle est généralement bonne après une demi-heure ; les espèces très résistantes, le *Bacille de la lèpre* entre autres, demandent jusqu'à deux heures.

Chaque coupe, rincée à l'eau, est plongée dans un bain acide obtenu en ajoutant 10 gouttes d'acide chlorhydrique à 50 grammes d'eau, jusqu'à ce que la couleur soit devenue bleu tendre, puis passée dans une solution aqueuse faible de carbonate de lithine (eau, 10 centimètres cubes ; solution aqueuse concentrée de carbonate de lithine, 6 à 8 gouttes) et portée dans de l'eau pure.

Il est nécessaire de pousser la décoloration par le bain acide jusqu'à ce que la teinte devienne bleu tendre, pour que les noyaux soient suffisamment décolorés et ne masquent pas les Bactéries. Le temps de séjour dans le bain varie naturellement suivant la préparation ; il faut opérer avec quelques tâtonnements.

La coupe, sortant de l'eau, est plongée dans un bain d'alcool absolu contenant un peu de bleu pour le teinter, puis portée dans de l'huile d'aniline colorée légèrement aussi avec du bleu. Cette addition d'un peu

(1) Kuhne, Recherche des Bactéries dans les tissus des animaux, traduit par Hermann. Paris, Carré, 1889.

de bleu à l'alcool et à l'huile d'aniline est faite pour éviter le plus possible une nouvelle décoloration de la coupe par ces réactifs.

La préparation, ainsi déshydratée, est laissée quelques minutes dans une huile essentielle bien fluide, puis immergée dans un ou deux bains successifs de xylol et montée dans le baume après évaporation de la majeure partie du xylol qui l'imbibait.

On colore par cette méthode des Bactéries très difficiles à colorer par les procédés ordinaires.

Les préparations ainsi obtenues laissent bien souvent distinguer encore la structure des tissus. Il est cependant préférable de procéder à une double coloration. On transporte les coupes du xylol dans un bain d'huile d'aniline qui a dissous un peu de safranine. Les coupes, rincées dans l'huile d'aniline pure, doivent garder une teinte rosée. Elles sont alors passées par l'essence et le xylol.

Kühne conseille d'appliquer comme il suit la méthode de Gram à l'étude des Bactéries dans les tissus :

Les coupes sont colorées dans un bain assez foncé de violet, auquel on ajoute volume égal d'une solution aqueuse de carbonate d'ammoniaque à 1 p. 100. Après lavage à l'eau, on les immerge pendant quelques minutes dans une solution iodo-iodurée renfermant 2 d'iode, 4 d'iodure de potassium pour 100 d'eau. Après lavage à l'eau, la matière colorante est extraite par un bain d'alcool absolu coloré à la fluorescéine (2 p. 100). Cette dernière couleur est enlevée par l'alcool pur ; la préparation est passée dans l'huile d'aniline, dans une essence, dans le xylol, et montée enfin dans le baume.

Méthode de Weigert. — On procède comme il a été dit page 303 pour les lamelles.

Méthode de Nicolle pour les Bactéries qui ne prennent pas le Gram (1). — Elle est basée sur la propriété qu'a le tannin d'insolubiliser le bleu de méthylène fixé sur les préparations. Les coupes sont colorées de une à trois minutes par le bleu de Loeffler ou de Kühne, lavées à l'eau, puis traitées par une solution de tannin au dixième dont l'action est presque instantanée. On lave à l'eau, déshydrate par l'alcool absolu ; on éclaircit par l'essence de girofle ou de bergamote, on lave à fond dans le xylol et on monte dans le baume au xylol.

Méthode de Claudius. — Avec les quelques modifications indiquées p. 302, elle donne de bons résultats pour les tissus.

9° Étude de quelques méthodes et procédés spéciaux.

1° Préparations par impression.

Sous le nom de *Klatschpreparate*, qu'on peut traduire avec Crookshank (2) par *préparation par impression*, Koch (3) a imaginé un

(1) Nicolle, Méthode de recherche des microorganismes qui ne se colorent pas par le procédé de Gram (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 783).

(2) Crookshank, Manuel pratique de bactériologie, traduit par Bergeaud, 1886.

(3) Koch, Die Aetiologie der Tuberculose (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, 1887, 1).

procédé de préparation donnant des résultats très intéressants dans certains cas spéciaux. Une lamelle bien propre et flambée est appliquée sur la face supérieure d'une culture et serrée légèrement contre elle. Les éléments de la couche supérieure de la culture s'accolent au verre dans la position qu'ils occupaient. En soulevant doucement la lamelle, on peut réussir à leur faire conserver en partie leurs rapports. La préparation est soumise aux procédés ordinaires de fixation et de coloration. La méthode est très applicable aux colonies des cultures sur plaques et aux cultures en cristallisoirs. Elle ne peut pas servir par contre pour les cultures en tubes. Elle est surtout avantageuse pour l'étude des espèces dont les colonies affectent des formes spéciales, caractéristiques. La figure 148 représente, d'après Koch, une préparation par impression d'une culture de *Bacille de la tuberculose*. La disposition et le groupement tout spécial des bâtonnets offrent un caractère d'autant plus important qu'on ne les retrouve pas seulement d'une façon constante dans les cultures artificielles, mais, dans le cas particulier, ils affectent les mêmes rapports dans l'organisme lui-même, lorsqu'ils peuvent végéter abondamment en un point.

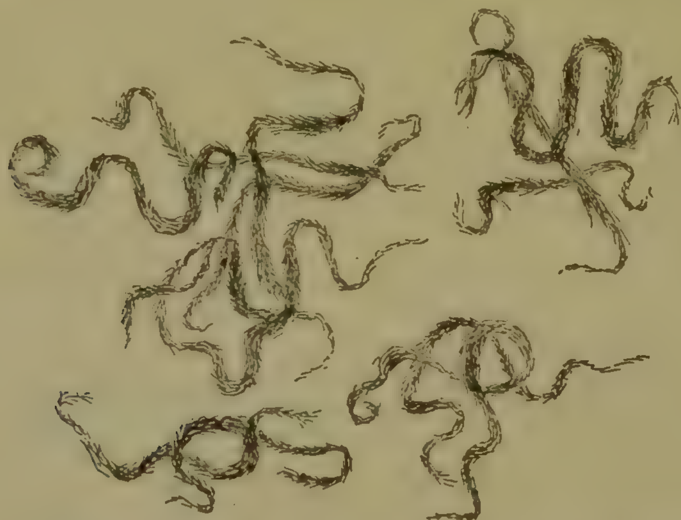


Fig. 148. — Préparation par impression de Bacille tuberculeux, obtenue d'un tubercule du rein de l'homme : 700/1 (d'après Koch).

On obtient également d'excellents résultats du procédé, en l'appliquant à l'étude d'espèces qui forment sur les milieux de culture des figures bizarrement contournées, dues à la disposition des éléments de la colonie.

2° Coloration des spores.

En traitant les cellules contenant des spores par certains réactifs, la chaleur par exemple, on parvient à colorer ces dernières qui résistent aux procédés de coloration ordinaire. Ces réactifs paraissent agir en diminuant la force de résistance de la membrane, qui se laisse alors imprégner par le colorant. Büchner (1) a obtenu la coloration des

(1) Buchner, Ueber das Verhalten der Spaltpilzsporen zu den Anilinfarben (*Aertz. Intelligenzbl.*, 1885, p. 370).

spores en les traitant au préalable par l'acide sulfurique concentré, ou par une forte solution de potasse caustique, ou en les soumettant pendant une demi-heure à une chaleur sèche de 120°. Aryesky (1) prend l'acide chlorhydrique dilué et bouillant. Hueppe (2) a donné un moyen infiniment plus pratique de les colorer : c'est de passer de six à dix fois la lamelle dans la flamme bleue du bec Bunsen au lieu de s'arrêter après la troisième, comme on le fait pour la fixation ordinaire ; cette méthode n'est naturellement pas applicable aux coupes.

Les lamelles ainsi passées dans la flamme sont portées dans un bain de fuchsine ; on peut employer la solution aqueuse simple, ou mieux la solution de fuchsine dans l'eau anilinée ou la solution de Ziehl. Elles doivent y rester longtemps, de une demi-heure à une heure. Les spores se montrent alors colorées en rouge intense, les bâtonnets en rouge plus clair.

Il est facile d'obtenir une *double coloration* très jolie. Les lamelles, colorées comme il vient d'être dit, sont traitées par l'alcool ou l'acide nitrique très étendu d'eau jusqu'à décoloration presque complète, puis portées dans la solution de bleu de méthyle de Loeffler où on les laisse pendant deux minutes, et lavées à grande eau. Les spores se montrent colorées en rouge intense ; les bâtonnets sont teints en bleu pâle. Cette méthode de double coloration des spores est applicable aux coupes de tissus.

La *méthode de Moeller* (3) donne de très bons résultats. On procède de la façon suivante avec les lamelles préparées et simplement séchées :

1° Fixer deux minutes à l'alcool absolu, puis porter deux minutes dans du chloroforme. Ne pas laver ;

2° Faire agir pendant cinq minutes une solution d'acide chromique à 5 p. 100 ;

3° Colorer au Ziehl, cinq à six heures à froid, ou cinq à dix minutes à chaud ;

4° Décolorer au choix par :

a. L'alcool absolu (ne suffit pas toujours) ;

b. L'acide sulfurique à 5 p. 100 (suivi d'alcool) ;

c. Le chlorhydrate d'aniline à 2 p. 100, quelques secondes (suivi d'alcool) ;

5° Laver et colorer au bleu.

Klein (4) emploie le Ziehl à chaud pendant six minutes, décolore à l'acide sulfurique, puis recolore au bleu.

3° Coloration des cils.

Les cils vibratiles des Bactéries mobiles prenant difficilement la couleur, ne se colorant jamais en particulier par les procédés de coloration simples, il est nécessaire, pour les étudier, de recourir à des méthodes

(1) Aryesky, Eine einfache Sporensfärbungsmethode (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 329).

(2) Hueppe, Die Methoden der Bakterien forschung, 1887.

(3) Moeller, Ueber eine neue Methode der Sporenfärbung (*Centralbl. für Bakt.*, X, 1891, p. 273).

(4) Klein, Eine einfache Methode zur Sporenfärbung (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 376).

spéciales. Nous allons décrire les meilleures des méthodes conseillées, en insistant cependant sur ce point qu'elles ne donnent trop souvent que des résultats imparfaits, bien qu'on s'attache à suivre à la lettre les prescriptions établies par leurs auteurs. Quelques détails ont déjà été donnés page 33; nous ne les répéterons pas ici où seront seulement exposées les méthodes les plus recommandables.

D'une façon générale, on doit se servir de préférence d'une jeune culture sur gélose du microbe que l'on veut étudier à ce point de vue. On en prélève une parcelle qui est délayée dans 2 ou 3 centimètres cubes d'eau distillée. Avec cette dilution, on prépare plusieurs lamelles. Pour obtenir de belles préparations, il faut que la dilution soit suffisante pour que les éléments se trouvent souvent isolés. Il faut éviter les chocs et les heurts qui cassent très facilement les cils si fragiles. Il faut éviter tout ce qui peut être autre que les éléments microbiens ; les mordants fixent la nuance sur tout, ce qui nuit à la netteté de la préparation. Les lamelles doivent être parfaitement propres. Le contact des doigts doit être évité, même pour l'eau de lavage ; de la matière sébacée pourrait être entraînée et adhérer à la préparation. Les lamelles sèches sont passées trois fois dans la flamme pour fixation. Les préparations sont alors soumises à l'action des réactifs.

1° *Méthode de Loeffler* (1). — Les préparations sont soumises à l'action d'un *bain mordant* composé ainsi qu'il suit :

Bain mordant.

Solution aqueuse de tannin à 20 grammes de tannin pour 80 grammes d'eau distillée.....	10 centimètres cubes.
Solution aqueuse de sulfate ferreux saturée à froid....................................	5 —
Solution saturée de fuchsine dans l'alcool absolu....................................	1 centimètre cube.

C'est un liquide qui ressemble beaucoup à de l'encre. Il est nécessaire de modifier la réaction de ce bain mordant suivant que l'on a affaire à un microbe qui développe de l'acide ou de l'alcali dans ses cultures. Pour les microbes acidifiants, il faut ajouter au bain quelques gouttes d'une solution de soude à 1 p. 100 (de une à quarante gouttes suivant le cas) ; c'est ce qu'on doit faire pour le *Bacille typhique*, le *Colibacille*, le *Vibrion septique*, le *Bacille du charbon symptomatique*, le *Bacillus subtilis*, le *Micrococcus agilis*. Si au contraire le microbe est nettement alcalinisant dans ses cultures, il faut remplacer l'alcali par un acide (acide sulfurique à 1,225 p. 100) ; c'est le cas du *Spirille du choléra*, du *Spirille de Finckler et Prior*, du *Spirille de Metschnikoff*, du *Bacille pyocyanique*. On verse une goutte du bain ainsi modifié sur la lamelle préparée tenue avec une pince et l'on chauffe au-dessus d'une petite flamme pendant une demi-minute à une minute au plus, en évitant avec soin l'ébullition ; il faut que le liquide émette seulement des vapeurs. On lave à l'eau distillée et à l'alcool absolu.

(1) Loeffler, Eine neue Methode zum Färben der Mikroorganismen in besonderen ihrer Wimperhaare und Geisseln (*Centralbl. für Bakt.*, VI, 1887). — *Id.*, Weitere Untersuchungen über die Beizung und Färbung der Geisseln bei den Bakterien (VIII, 1890).

On porte les préparations dans une solution colorante. C'est une solution saturée de fuchsine dans l'eau anilinée à laquelle on a ajouté quelques gouttes de solution de soude à 1 p. 100 jusqu'à opalescence commençante. Une goutte de la solution est placée sur la lamelle que l'on chauffe doucement pendant une minute. On lave à l'eau, on laisse sécher et on monte.

2° *Méthode de Nicolle et Morax.* — Nicolle et Morax (1) ont avantageusement modifié la manière de faire indiquée par Loeffler. Les lamelles simplement desséchées sont traitées par une grosse goutte de bain mordant préparé comme l'indique Loeffler, avec du tannin à l'éther de très bonne qualité; on chauffe une dizaine de secondes sur une petite flamme (bec-veilleuse). Dès que les vapeurs apparaissent, on lave doucement avec une pissette et on recommence deux ou trois fois le mordançage et le lavage. On colore en versant de la fuchsine de Ziehl sur la préparation et en chauffant une ou deux fois pendant un quart de minute; on lave et on examine dans l'eau. Si la préparation est réussie, on sèche et on monte dans le baume.

3° *Méthode de Straus.* — Straus (2) dit mettre très facilement en évidence les cils du *Spirille du choléra*, du *Spirille de Metschnikoff*, du *Spirille de Finckler et Prior*, par le procédé suivant : une goutte de culture récente (de un à trois jours) dans le bouillon est déposée sur une lame. On y ajoute, en mélangeant bien, une goutte de la solution fuchsinée de Ziehl étendue de trois à quatre parties d'eau. On recouvre d'une lamelle et on examine aussitôt et aussi rapidement que possible avec un bon objectif à immersion homogène. En examinant les Bactéries qui présentent des mouvements, on voit à une extrémité un flagellum très mince, de longueur variable, coloré en rouge pâle, pouvant encore vibrer. Ce procédé très simple ne donne pas de résultats avec le *Bacille typhique*, le *Colibacille*, le *Bacillus subtilis*.

4° *Méthode de Bunge.* — Bunge (3) prend trois parties d'une solution aqueuse concentrée de tannin et les mélange avec une partie de solution de sesquichlorure de fer à 1/20e. A 10 centimètres cubes de ce mélange, il ajoute 1 centimètre cube de solution aqueuse concentrée de fuchsine. Le liquide doit être laissé à l'air pendant quelques semaines; on le filtre au moment de s'en servir. On y laisse pendant cinq minutes les lamelles simplement préparées par dessiccation. On lave et sèche, on colore ensuite à chaud quelques minutes par la fuchsine phéniquée. Pour employer ce liquide aussitôt, Bunge conseille d'y ajouter quelques gouttes d'eau oxygénée et de filtrer ensuite.

5° *Méthode de Van Ermenghem* (4) (méthode recommandée). — Fixer

(1) Nicolle et Morax, Technique de la coloration des cils (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 554).

(2) Straus, Sur un procédé de coloration à l'état vivant des cils ou flagella de certaines Bactéries mobiles (*Soc. de Biol.*, 18 juin 1892).

(3) Bunge, Ueber Geisselfärbung von Bakterien (*Fortschr. der Med.*, XII, 1894, n° 12). — *Id.*, Weitere Mittheilungen über Geisselfärbung (*Ibid.*, XII, 1894, n° 24).

(4) Van Ermenghem, Nouvelle méthode de coloration des cils de Bactéries (*Travaux du laboratoire d'hygiène et de bactériologie de l'Université de Gand*, I, 1893).

les lamelles préparées par un séjour de une demi-heure à froid ou de cinq à dix minutes à chaud, dans le *bain fixateur* :

Acide osmique à 2 p. 100	1 partie.
Tannin en solution aqueuse à 25 p. 100	2 parties.
Acide acétique	4 gouttes.

Laver à l'eau distillée.

Sensibiliser dans une solution aqueuse de nitrate d'argent à 0,5 p. 100 (il est bon parfois d'aller jusqu'à 2 p. 100), pendant une ou deux minutes, en tout cas jusqu'à ce que la préparation prenne une teinte grisâtre. L'argent se fixe sur les cils et les corps microbiens. Ne pas laver.

Plonger dans un *bain réducteur* ainsi composé :

Acide gallique	5 grammes.
Tannin	8 —
Acétate de soude fondu	10 —
Eau	350 —

Y laisser la préparation pendant une ou deux minutes; laver ensuite.

Colorer à la solution de Ziehl et monter.

Stephens (1) modifie le procédé de Van Ermenghem en remplaçant la solution de nitrate d'argent par une solution à 2 p. 100 de largine (combinaison de nitrate d'argent et d'albumine ; chez Merck).

6° *Méthode de Bowhill* (2). — Le mordant employé est l'*orcéine*. On mélange parties égales des deux solutions suivantes :

Solution 1.

Orcéine	1 gramme.
Alcool absolu	50 centimètres cubes.
Eau distillée	40 —

Solution 2.

Tannin	8 grammes.
Eau distillée	40 centimètres cubes.

Faire dissoudre à chaud.

Le mélange est fait au moment du besoin et filtré ; c'est le bain mordant.

Les lamelles préparées sont mises à nager sur ce bain mordant, chauffé doucement, la face préparée tournée naturellement en dessous ; elles y sont laissées de dix à quinze minutes.

Laver largement à l'eau et sécher.

On colore à la solution anilinée de violet de gentiane (p. 296), chauffée jusqu'à dégagement de vapeurs.

Laver, sécher et monter dans le baume.

Cette méthode réussit très bien pour le *Bacille typhique*, le *Proteus vulgaris*, le *Bacillus subtilis*. Pour le *Spirille du choléra*, il est préfé-

(1) Stephens, *The Lancet*, vol. II, 1898, p. 874.

(2) Bowhill, Eine neue Methode des Bakterien-Geisselfärbung bei Gebrauch einer Orceïnbeize (*Hygienische Rundschau*, 1898, n° 1).

rable d'ajouter, pour 10 centimètres cubes de mordant, 1 centimètre cube de solution saturée d'alun.

4° Coloration des capsules.

Les méthodes de coloration ordinaires ne mettent qu'imparfaitement ou même pas du tout en évidence les capsules que possèdent certains microbes. Le plus souvent, même alors que les microbes prennent fortement la couleur, leurs capsules restent incolores.

La solution fuchsinée de Ziehl réussit d'ordinaire bien, surtout si on fait passer la lamelle après coloration dans un bain d'acide acétique dilué (une goutte d'acide acétique pour 5 centimètres cubes d'eau). Les solutions ordinaires de violet, après un lavage très rapide à l'eau, peuvent donner également de bons résultats (1).

On peut aussi employer la *méthode de Ribbert*. Les lamelles ou les coupes sont colorées pendant quelques minutes dans le mélange suivant :

Eau distillée	100
Alcool	50
Acide acétique	12,50

que l'on sature à chaud de violet de dahlia. La coloration se fait presque instantanément. On lave à l'eau, on sèche et monte. Les microbes sont en bleu foncé, les capsules en bleu clair.

5° Colorations spéciales du Bacille de la tuberculose, du Bacille de la lèpre, du Bacille de la syphilis.

Les différentes méthodes employées seront exposées en détail plus loin, lors de l'étude de chacune des espèces en question.

6° Coloration des microorganismes dans le sang.

La recherche des Bactéries et en général des divers microorganismes dans le sang peut offrir des difficultés assez grandes qui tiennent surtout à l'abondance des globules rouges masquant facilement les microbes lorsqu'ils sont peu abondants, ce qui arrive le plus souvent (2). Pour remédier à cet inconvénient, Vincent (3), se basant sur ce que les couleurs d'aniline se fixent sur l'hémoglobine et non sur le protoplasma, a imaginé de traiter d'abord les préparations par un réactif dissolvant l'hémoglobine avant de faire agir la couleur. Il s'est arrêté au liquide suivant qui n'altère pas la forme des globules rouges et ne laisse aucun dépôt :

Solution aqueuse d'acide phénique à 5 p. 100.	6 centimètres cubes.
Eau saturée de chlorure de sodium	30 — —
Glycérine	30 — —

(1) Pane, Ueber die Genesis der Kapseln des Pneumococcus (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 289).

(2) Kuhnau, Ueber die Resultate und die Leistungs fähigkeit der bakteriologischen Blutuntersuchung im Dienste der klinischen Diagnostik (*Zeitschr. für Hygiene*, XXV, 1897, p. 492).

(3) Vincent, Sur un nouveau mode de coloration des microorganismes dans le sang (*Soc. de Biol.*, 16 juin 1894).

La lamelle desséchée simplement à une douce chaleur est laissée pendant une demi-minute à deux minutes, suivant l'épaisseur de la couche, avec un peu du mélange précédent. L'hémoglobine se dissout entièrement. On lave doucement à l'eau et on colore au bleu de méthylène phéniqué, au bleu de Loeffler ou même à l'éosine. Le procédé réussit en particulier très bien pour les formes en croissant de l'*Hématozoaire de Laveran*.

Il y aurait à décrire bien d'autres procédés de coloration, appliqués à des cas spéciaux, qui ont fourni des résultats remarquables. Vu leur manque de généralisation, il est préférable de les étudier en même temps que les espèces à l'examen desquelles ils ont été appliqués.

III. — Montage des préparations.

Les préparations sorties du dernier bain colorant et débarrassées d'excès de liquide par lavage, doivent être examinées avant leur complet achèvement. Lorsqu'elles ont été traitées par une solution aqueuse, l'eau peut servir comme véhicule ; quand elles sont sèches ou qu'elles ont été lavées à l'alcool, on se sert de xylol ou d'huile d'aniline.

Celles qui sont jugées satisfaisantes et dont on veut faire des préparations durables, sont alors montées dans un liquide conservateur ou bien dans le baume du Canada ou la résine Dammar.

La *glycérine*, si utile en histologie, n'est que rarement employée ; elle dissout assez vite les couleurs d'aniline, sauf les bruns qu'elle conserve parfaitement. Les Bactéries colorées à la fuchsine, au violet ou au bleu, y deviennent en peu de temps très pâles ou incolores. Elle est à recommander, au contraire, dans les cas particuliers où l'on colore à la vésuvine, pour la photographie par exemple. La gélatine glycérinée (1) offre les mêmes inconvénients, quoique à un degré moindre. Ces deux substances ont le grand défaut d'être très réfringentes ; les Bactéries incolores ou peu colorées s'y distinguent mal.

La solution concentrée d'*acétate de potasse* (acétate de potasse 1 gramme, eau 2 grammes), indiquée par Schultze (2) et appliquée par Koch à l'étude des Bactéries, est un excellent liquide conservateur, qui doit avec raison mériter la préférence. Les colorations, surtout celles à la fuchsine et aux violets, s'y conservent aussi vives qu'au début ; de plus, elle gonfle légèrement la membrane des Bactéries, qui y reprennent à peu près les dimensions qu'elles avaient avant la dessiccation. Ce liquide est du reste d'un usage aussi commode que la glycérine ; très hygroscopique, il ne sèche pas facilement ; il est recommandé d'attendre vingt-quatre heures pour luter les préparations. Son indice de réfraction est inférieur à celui de la glycérine ; les objets transparents y paraissent bien plus nets.

Les préparations dans les milieux liquides sont fermées avec les luts ordinaires, cire à cacheter dissoute dans l'alcool, paraffine, etc.

(1) Ch. Robin, Traité du microscope, 1re édition, p. 250. Paris, J.-B. Baillière.
(2) Schultze, *Arch. für mikr. Anat.* 1872, p. 180.

On emploiera plus fréquemment le *baume du Canada* ou la *résine Dammar*, dissous dans le xylol et pas dans le chloroforme, qui a le grave inconvénient de dissoudre les couleurs d'aniline et de faire pâlir au bout de peu de temps les préparations. Bolles Lee et Henneguy (1) recommandent également pour les couleurs d'aniline la solution de *colophane* dans la térébenthine à indice de réfraction moins élevé que celui du baume et de toute confiance pour la durée. Après lavage à l'alcool et dessiccation, il est souvent utile de traiter les lamelles ou les coupes par un réactif *éclaircissant*.

L'*essence de girofle*, employée dans ce but en histologie, dissout les couleurs d'aniline; aussi ne doit-on la laisser agir que très peu de temps et l'enlever avec du papier buvard dès que l'effet est obtenu. Il est préférable de se servir d'*essence de cèdre* ou, mieux, *de bergamote*, qui ne présentent pas le même inconvénient. L'excès d'essence enlevé avec du buvard, on dépose à sa place une goutte de baume et on monte comme d'habitude. La face de la lamelle qui porte le dépôt coloré doit naturellement être appliquée *sur* le porte-objet et être imprégnée du produit conservateur. Il est parfois difficile de la reconnaître de l'opposée, lorsqu'elle n'a conservé que de minces parcelles peu colorées de substance à examiner. Aussi peut-il être avantageux de marquer au début le côté préparé d'un petit trait au diamant qui sera un excellent guide. Avec de l'habitude, on arrive vite à s'orienter. La couche colorée présente un aspect terne et un reflet métallique facile à apercevoir, même lorsqu'il est très faible, en éclairant la lamelle par réflexion.

Résumé du manuel opératoire.

Nous croyons utile de passer sommairement en revue les diverses opérations nécessaires à la préparation des Bactéries dans les liquides ou dans les tissus, dont la description détaillée a été donnée dans ce chapitre.

Recherche des Bactéries dans les liquides. — Une goutte du liquide est placée sur un couvre-objet *parfaitement propre*, à l'aide d'un fil de platine ou d'une baguette de verre préalablement passés dans la flamme, puis refroidis. Le liquide est étalé en couche très mince. Les liquides très riches en Bactéries devront être dilués avec de l'eau distillée pure de germes. Si c'est une culture épaisse qui est à examiner, on en délaye une parcelle dans une goutte d'eau pure. Si l'on a affaire à des liquides épais, visqueux, comme du sang, du pus, des crachats, on les étale en stries sur la lamelle avec la pointe du fil de platine, de façon à avoir des couches suffisamment minces, ou on les écrase entre deux lamelles, que l'on sépare en les frottant l'une sur l'autre. Les lamelles sont séchées à une douce température à l'abri de la poussière, la face chargée tournée en haut.

La mince pellicule obtenue par dessiccation est fixée en passant par trois fois la lamelle, tenue à l'aide d'une pince fine, dans la flamme bleue

(1) Bolles Lee et Henneguy, Traité des méthodes techniques de l'anatomie microscopique. Nouvelle édition, Paris, Doin, 1896.

d'un bec de Bunsen ou d'une lampe à alcool, lentement, de la manière indiquée page 288.

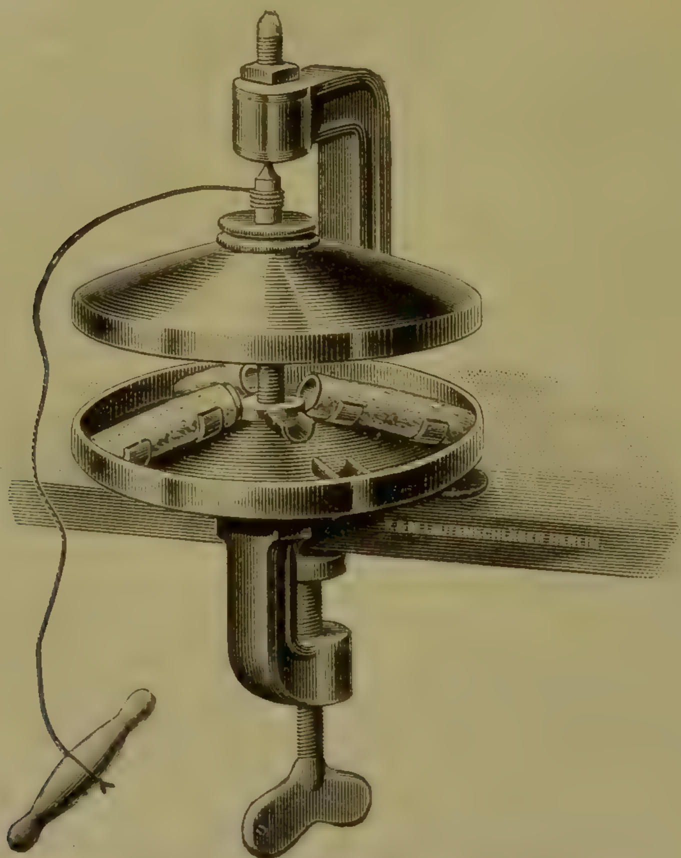


Fig. 149. — Centrifugeur de Gärtner (petit modèle).

La lamelle est déposée sur le bain colorant (p. 292) contenu dans un verre de montre ou un godet, froid ou chauffé vers 50-60°, la face préparée tournée en dessous, de façon qu'elle soit complètement mouillée par le liquide, sans bulles d'air interposées. La coloration demande un temps variable suivant la préparation; on en surveille les progrès en soulevant de temps à autre la lamelle avec des pinces.

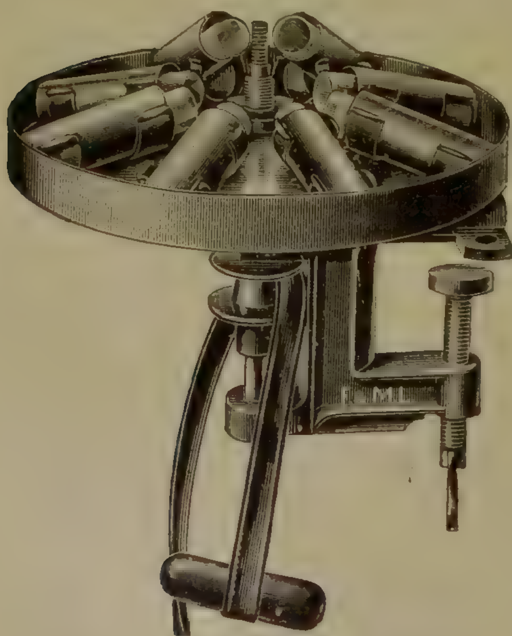


Fig. 150. — Centrifugeur « Rapid ».

La préparation est lavée à grande eau jusqu'à ce qu'elle ne cède plus de couleur. Lorsque la couche colorée se délite, ce qui peut arriver avec les liquides qui ne contiennent pas de matières coagulables ou avec certaines espèces qui ne se collent que difficilement à la lamelle ou d'autres qui se décolorent très vite, il faut éviter de laver; l'excès du bain colorant est enlevé avec du papier buvard.

On procède alors à la décoloration, si elle est nécessaire, en agitant la lamelle dans de l'alcool absolu ou plus ou moins étendu, et en arrêtant, par un lavage à l'eau qui doit souvent être immédiat, par l'évaporation de l'alcool qui mouille la lamelle, si l'action est lente, ou en déposant sur la lamelle une goutte de solution d'acide azotique au tiers et passant rapidement à l'eau dès que la coloration vert jaune apparaît, pour faire agir de nouveau du réactif si la décoloration n'est pas suffisante (p. 301). On peut alors traiter par un bain différent pour obtenir une double coloration qui est souvent nécessaire lorsque le liquide contient d'autres éléments que l'on veut étudier (p. 304).

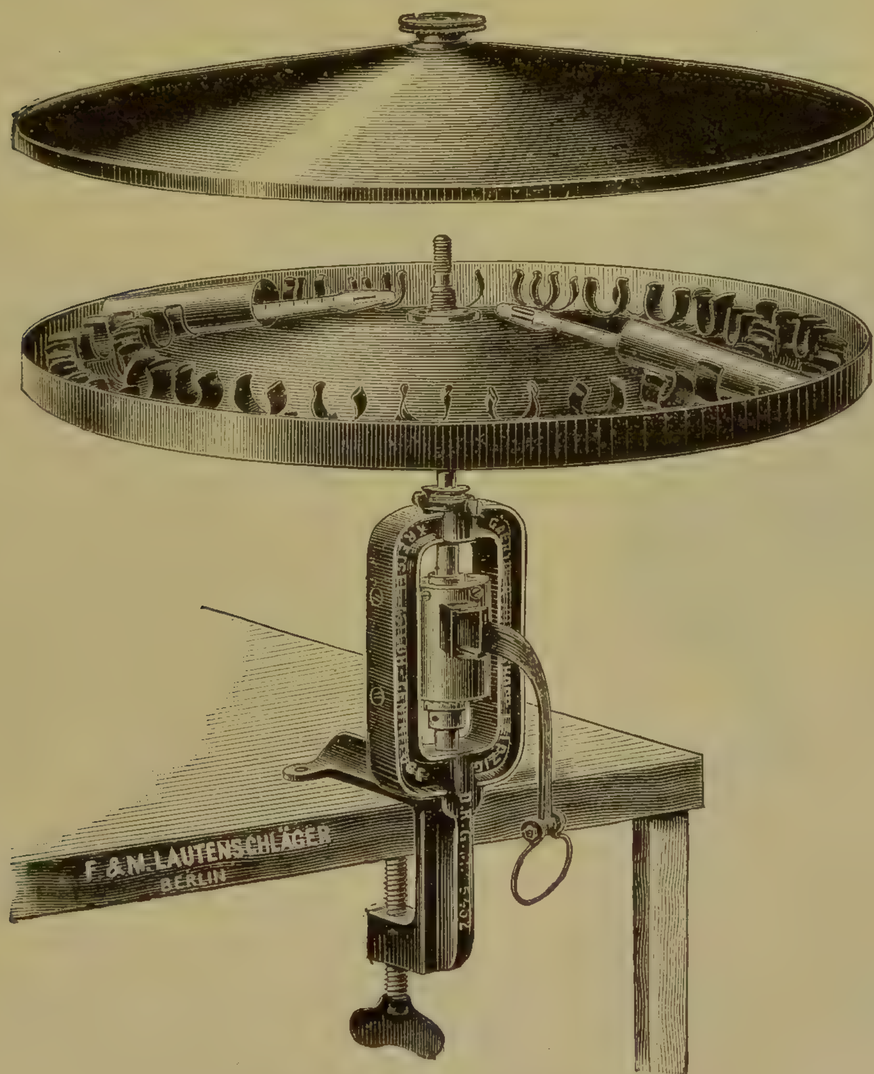


Fig. 151. — Centrifugeur de Gärtner (grand modèle).

La préparation, lavée à l'eau, est montée dans l'acétate de potasse, ou lavée rapidement à l'alcool absolu, séchée, éclaircie à l'essence de girofle et montée au baume.

Pour rechercher des Bactéries dans des liquides, on peut avoir grand intérêt à employer la *centrifugation*, qui permet de rassembler en un petit volume du liquide tous les corpuscules en suspension se condensant à la partie du vase la plus éloignée du centre d'action.

Il existe de nombreux modèles d'*appareils à centrifuger*. Les *centrifu-*

geurs de Gärtner représentés figures 149, 150 et 151 sont d'un emploi courant; l'appareil représenté figure 152 donne particulièrement de bons résultats. On est souvent forcé de mettre en œuvre des appareils plus compliqués, obtenant jusqu'à trois et quatre mille tours à la minute, surtout lorsqu'on veut soumettre à la centrifugation des liquides sensiblement visqueux.

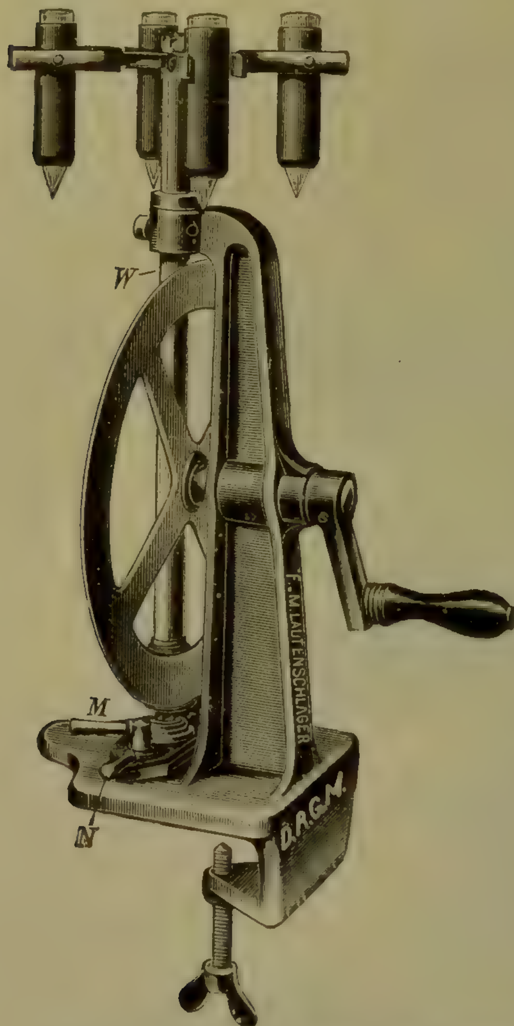


Fig. 152. — Centrifugeur à grande vitesse.

Recherche des Bactéries dans les tissus. — Lorsque les tissus sont gorgés de sucs, on peut, en les exprimant ou les raclant avec un scalpel, obtenir du liquide renfermant des Bactéries, qui sera traité comme il vient d'être dit. A part ce cas spécial, il faut débiter les tissus en coupes minces, à l'aide de microtomes.

Si l'on veut étudier des tissus frais ou des tissus insuffisamment durcis, pour ne pas trop prolonger l'action de l'alcool, on les coupe après une congélation moyenne obtenue à l'aide des appareils usités dans les laboratoires, principalement de pulvérisations d'éther.

D'habitude, les organes à examiner sont mis à durcir par petits morceaux dans les liquides employés dans ce but en histologie.

Les tissus durcis sont débités en coupes le plus minces possible à l'aide de microtomes.

Les coupes sont traitées comme il a été dit précédemment (p. 305), puis déshydratées par l'alcool absolu, éclaircies à l'essence de girofle et montées dans le baume.

Des causes d'erreur dans la recherche et l'examen des Bactéries.

Il n'existe guère d'organismes inférieurs dont la forme pourrait prêter à confusion. Tout au plus pourrait-on citer quelques spores secondaires de certains Champignons, de très petite taille et en bâtonnet; leur germination en un filament mycélien établira une distinction bien nette. Les cellules de *Levures*, les filaments de mycélium des *Moisissures* se reconnaîtront à leur aspect et à leurs dimensions. Les cultures pures, du reste, fourniront un critérium de toute sûreté.

La grande ressemblance de beaucoup de granulations, qui se rencontrent dans les préparations, avec des *Micrococcus* pourrait plutôt induire en erreur. Dans les différents procédés employés pour la fixation

des Bactéries, il se produit souvent, sous l'influence des réactifs, des précipités de matière protéique, affectant la forme de granules arrondis, de très petites dimensions, absorbant fortement les couleurs. On en obtient surtout lorsqu'on soumet à la fixation dans la flamme de gaz des pellicules d'évaporation dont la dessiccation n'a pas été bien terminée à basse température. Ehrlich (1) a fait observer que les solutions de couleurs d'aniline ajoutées à un liquide de réaction alcaline précipitent sous forme de granulations colorées qu'on pourrait prendre pour des Bactéries sphériques ; c'est une raison qui fait abandonner l'emploi des alcalis dans les colorations et les fait remplacer, uniquement ou presque, par l'huile d'aniline. Il est rare que les granulations ainsi produites ne se reconnaissent pas à un examen attentif, par l'irrégularité de leurs formes et les différences souvent très grandes qu'elles présentent dans leurs diamètres. En effet, tandis que chez les *Micrococcus* les cellules sont parfaitement sphériques, homogènes et présentent, à très peu de chose près, les mêmes dimensions, ces précipités renferment des éléments très irréguliers, de forme et de grosseur excessivement variables. Lorsqu'on peut les pratiquer, les cultures différencient vite un précipité inerte d'un qui contient des Bactéries; une quantité infinitésimale du dernier féconde une culture qui reste stérile avec l'autre.

Il en est de même des granulations de différentes substances albuminoïdes qui s'observent presque toujours dans le sang ou les tissus, pouvant provenir de la dissociation de certains éléments, surtout des noyaux.

Les granulations *basophiles* de certains leucocytes ressemblent souvent beaucoup à des *Microcoques*. On les en distingue en se basant sur leur coloration plus lente, sur leur décoloration plus facile, sur leurs contours moins réguliers, et enfin sur l'inégalité de leur diamètre.

Il y a moins fréquemment méprise pour les Bactéries en bâtonnets. Cependant des traînées de fibrine coagulée peuvent affecter la forme filamenteuse. Celli et Guarneri (2) ont signalé dans les crachats la présence, assez rare il est vrai, de cristaux allongés d'acides gras, retenant fortement la matière colorante, pouvant être pris, à un examen trop rapide, pour des *Bacilles de la tuberculose*. La forme en est caractéristique ; il suffit d'être prévenu. Ils s'éclairent du reste très vivement dans la lumière polarisée, ce que ne font pas les Bactéries.

Des cristaux d'oxalate de chaux, des cristalloïdes de matières albuminoïdes, spermine ou autres, peuvent en imposer pour des Bactéries. Les derniers sont gonflés par les alcalis et dissous dans une solution salée de pepsine ; les premiers sont solubles dans les acides forts.

Les résultats de l'observation peuvent être faussés par l'introduction de Bactéries étrangères avec les milieux employés. Les solutions aqueuses des matières colorantes fourmillent souvent de Bactéries au bout de quelque temps. C'est la principale raison pour laquelle il faut leur préférer des bains préparés d'une façon extemporanée avec des solutions alcooliques concentrées, de conservation parfaite, dont on

(1) Ehrlich, *Zeitschr. für klin. Med.*, V, p. 307, et *Berl. klin. Wochenschr.*, 6 mai 1882.

(2) Celli et Guarneri, *Acc. dei Lincei*, 17 juin 1883.

ajoute quelques gouttes à la quantité d'eau nécessaire. De plus, la récolte du liquide à examiner demande des précautions rigoureuses, indiquées à propos des cultures pures.

Les procédés de coloration employés peuvent ne pas convenir à l'espèce en question ; on peut donc être conduit à nier la présence de Bactéries dans un milieu qui en contient réellement. La seule chose à conseiller est de modifier les manipulations dans tel sens qu'on jugera bon et de ne se prononcer définitivement qu'après avoir épuisé la série des méthodes reconnues comme bonnes. C'est ainsi qu'on n'a trouvé le *Bacille de la tuberculose* qu'après que Koch eût annoncé la possibilité de le colorer avec les solutions alcalines.

Enfin, des illusions d'optique ou des erreurs d'observation peuvent faire croire à la présence de formes autres que celles qui se trouvent réellement dans la préparation. Les bâtonnets se placent souvent de champ, soit isolés ou en piles; ils paraissent être des éléments sphériques. Des bâtonnets courbés peuvent donner l'apparence de bâtonnets à deux spores, les extrémités de l'image semblant plus foncées que la partie médiane qui est simple. L'étude consciencieuse d'une préparation mettra en relief la forme normale de l'espèce qui s'y trouve et fera revenir sur les déterminations prises trop hâtivement.

Certaines humeurs d'Invertébrés, le liquide du cœlome des Vers de terre par exemple (Cuénot), contiennent en abondance de fins éléments en bâtonnets qui peuvent être aisément pris pour des Bactéries, d'autant plus qu'ils se colorent facilement aux couleurs d'aniline. L'addition d'une petite quantité d'alcali lève rapidement les doutes ; ces bâtonnets, de nature grasse ou albuminoïde probablement, se dissolvent vite.

Dans les formes en bâtonnets, le protoplasma se contracte souvent, sous l'influence des réactifs employés et aussi lorsque la cellule est vieille, en deux amas qui peuvent se toucher sur la ligne médiane ou n'être séparés que par un faible interstice, lorsque le bâtonnet est court. Des espèces de petite taille offrent cet aspect à l'état vivant : on l'attribue ici à une condensation du protoplasma plus forte aux deux pôles. Beaucoup de *diplocoques*, de formes en *biscuit à la cuiller*, en *haltères*, en *8 de chiffre*, n'ont pas d'autre origine. Les plus forts grossissements sont nécessaires pour faire distinguer l'aspect véritable.

Le protoplasma des cellules qui souffrent ou qui sont mortes change fréquemment d'aspect. Il se forme parfois dans son intérieur de grosses vacuoles qui ne se colorent pas et qui ont été prises pour des spores. Le bâtonnet entier peut même ne plus prendre de substance colorante ou se colorer d'une teinte beaucoup plus claire que des voisins encore en vie.

TROISIÈME PARTIE

CLASSIFICATION ET DESCRIPTION

Les très nombreuses espèces de Bactéries sont encore loin d'être toutes connues ; il en reste au contraire bien certainement beaucoup à décrire. Aussi doit-on se garder de tenir comme absolues les bases que l'on prend pour établir les genres. La classification, en effet, ne peut être définitive que lorsqu'on aura décrit, d'une façon suffisamment complète, un beaucoup plus grand nombre d'espèces, et qu'on aura surtout déterminé pour chacune d'elles toutes les variations que les changements physiques ou chimiques du milieu peuvent lui faire subir.

Malgré ses imperfections évidentes, une classification est nécessaire, ou tout au moins très utile. Certes, il n'est pas à affirmer que celle qu'on croit la meilleure puisse être vraie dans le sens absolu ; tout s'est tellement transformé dans cette science depuis trop peu de temps pour qu'on puisse être certain de la valeur réelle d'un caractère mis au premier rang à un moment donné. Il faut cependant reconnaître qu'un essai de classification sérieuse, ne la considérât-on même que comme tout à fait transitoire, est d'un très grand secours.

Les premiers classificateurs, Ehrenberg et Dujardin (Voy. l'*Introduction*, p. 2 et suiv.), s'en tenaient uniquement à la forme apparente. C'est sur ce caractère que ce dernier observateur établit ses trois genres, caractérisés comme il suit :

Bacterium : filaments rigides, à mouvements vacillants ;

Vibrio : filaments flexibles, à mouvements ondulatoires ;

Spirillum : filaments en hélice, à mouvements rotatoires.

Les formes sphériques étaient pour la plupart inconnues ; quelques espèces de son groupe des *Monades* sont cependant des *Micrococcus*.

C'est encore la forme qui sert le plus souvent aujourd'hui de caractère dominant aux classificateurs. Est-ce à dire toutefois qu'elle doive avoir une constance absolue? Certainement non. Les conditions extérieures, celles de milieu surtout, influent, nous l'avons vu, considérablement sur elle, comme du reste sur les propriétés physiologiques chez beaucoup d'espèces. On doit admettre cependant, et nous insistons sur ce point très controversé aujourd'hui, qu'il est pour chaque espèce une forme en quelque sorte *normale*, une sorte de moyen terme, autour duquel il peut se produire, dans des limites assez restreintes seulement, des variations en plus ou moins, mais auquel l'espèce revient *toujours*, lorsqu'on la place dans des conditions de vie déterminées. Il va sans dire que les variations pathologiques que nous avons désignées sous le nom de *formes d'involution* doivent être complètement mises de côté.

On peut affirmer à l'heure présente, avec la probabilité la plus grande, qu'il existe chez les Bactéries des espèces vraies, à caractères

fixes, se produisant et se perpétuant sans varier. La chose est absolument hors de doute pour quelques-unes. Les *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus butyricus*, *Bacillus megaterium*, entre autres, ont été très complètement étudiés à ce point de vue et suivis pas à pas pendant des cycles évolutifs nombreux par des observateurs des plus sagaces. Il n'est pas possible de nier scientifiquement la connaissance entière de leur développement. Pour décrire, en effet, avec certitude une espèce, et pouvoir affirmer sa fixité, il faut observer toutes les phases de son développement, partir de la spore et voir en outre les modifications que peuvent apporter les changements physiques ou chimiques des milieux. Il faut se garder des erreurs dues à des observations trop superficielles ou à une technique imparfaite. Bien des observateurs, victimes d'illusions, ont cru voir des liens réels là où il n'y avait que de simples rapports de juxtaposition. De là des simplifications prématurées, dont le type le plus saisissant est la théorie de la *Coccobacteria septica* de Billroth.

Le classificateur doit tenir compte de tous les caractères que l'on peut observer, et suivre, si c'est possible, en entier le développement, en évitant l'introduction d'éléments étrangers, cause si fréquente d'erreurs.

La forme des cellules est un des caractères les plus faciles à apprécier, en observant les précautions voulues. C'est aussi, quoi qu'on en dise, un des plus constants, *à la condition expresse qu'on ne la détermine que sur des individus en état de vie normale*. Ainsi même, dans la pleine période de végétation, lorsque la division se fait rapidement, des articles produits sont toujours de dimensions moindres que celles qui sont regardées comme normales. En règle générale, on peut considérer comme dimensions typiques celles de l'élément qui va sporuler ; ce n'est naturellement applicable qu'aux espèces qui forment des spores. Il existe d'ailleurs toujours des variations individuelles dont il faut prendre la moyenne.

Le mode de croissance et de division des individus, les particularités que peuvent présenter leurs différentes parties, sont souvent de grande utilité. La division suivant trois plans de différente direction caractérise on ne peut mieux les *Sarcines* : la production d'épaisses enveloppes de gelée fait très facilement distinguer les *Leuconostoc* et *Ascococcus*.

Chez les espèces qui produisent des spores, on trouve dans les caractères de ces corps reproducteurs des signes d'une précision et d'une constance remarquables. On ne les connaît malheureusement jusqu'alors que dans un nombre restreint d'espèces.

La forme et le développement des colonies dans les milieux divers fournissent de précieux renseignements. Il faut toutefois avoir grand soin de ne comparer que des colonies obtenues sur des milieux de composition chimique identique et de tenir compte des modifications déterminées par différentes conditions étudiées précédemment. Le principal changement est la diminution, plus ou moins rapide suivant l'espèce, de la vitalité des cultures après un certain nombre de générations. Nous savons que parallèlement s'atténuent aussi toute une série de propriétés physiologiques importantes, souvent toutes si intimement liées entre elles que lorsqu'une d'elles s'amoindrit les autres diminuent aussi en même proportion.

Pasteur a fait très heureusement entrer en ligne l'action physiolo-

gique, qu'il considère comme un caractère spécifique de premier ordre. D'après lui, lorsqu'une Bactérie obtenue pure provoque, dans un milieu déterminé, une fermentation ou une action chimique spéciale qui peut se reproduire à nouveau dans des cultures pures, elle doit être considérée comme une véritable espèce. Ce caractère, cependant, ne peut pas servir à une détermination absolue, plusieurs espèces pouvant avoir une action semblable. Il faut alors appeler d'autres signes à son aide.

Les exigences particulières de certaines espèces sont parfois d'un très grand secours. Le caractère aérobie ou anaérobie d'une Bactérie est d'autant mieux à remarquer qu'il est très facile à constater, dans les cas typiques du moins.

Enfin, l'action sur l'organisme animal peut rendre d'excellents services. La nocuité ou l'innocuité pour l'organisme et surtout pour tel ou tel animal d'expérience seulement, la nature, la situation, l'étendue des lésions observées, font souvent distinguer des espèces dont les caractères de forme et de culture sont identiques.

Dans un même ordre d'idées, on a cherché, et avec raison, à faire entrer en ligne de compte, pour la constitution des types spécifiques et pour la diagnose des espèces, des phénomènes que présente le sang de l'homme ou des animaux en puissance d'invasion par les microbes eux-mêmes ou d'influence des produits qu'ils sécrètent, de leurs toxines principalement. L'expérience démontre que l'on peut en particulier, dans le but précité, tirer grand profit de ce qu'on peut nommer la *réaction d'agglutination* et la *réaction sérothérapique*, phénomènes dont il a été parlé plus haut (p. 109 et suiv.).

En réalité, on ne peut pas considérer la *réaction d'agglutination* comme caractère réellement spécifique et surtout comme caractère absolu de diagnose. Si elle fait défaut, il existe de très grandes chances pour que le microbe sur lequel on opère ne doive pas être rapporté à l'espèce qui a été employée pour obtenir le sérum actif avec lequel l'opération a été faite; si elle s'observe, on ne peut pas affirmer être en présence de l'espèce en question, parce qu'il est avéré aujourd'hui qu'un sérum donné peut la provoquer dans des cultures d'autres espèces microbiennes que celle qui a servi à l'obtenir, et qu'ensuite des substances tout autres que les sérums, des produits chimiques divers, peuvent la déterminer également. Seulement, généralement les conditions de production de l'agglutination avec ces deux dernières séries de produits, autres sérums que le sérum spécifique et substances chimiques, sont sensiblement différentes; en précisant le plus exactement possible les conditions de l'opération, principalement dose de sérum nécessaire ou temps que la réaction met à se produire, il devient possible de tirer plus grand profit du phénomène (1).

La *réaction sérothérapique* est un caractère beaucoup plus sûr. De plus en plus, on arrive à la regarder comme étant réellement spécifique et à admettre que le fait qu'une antitoxine donnée, contenue dans un sérum d'animal immunisé à l'égard d'une espèce microbienne, neutralise réellement les effets avérés d'une toxine, est une preuve absolue

(1) GRUNBAUM, Blood and identification of bacteriol species (*Science progress*, New-séries, vol. I, nº 5, octobre 1897).

de la présence, dans le milieu d'où la toxine a été retirée, de l'espèce qui a été employée pour obtenir l'antitoxine. Aucun des autres caractères invoqués ne saurait avoir l'importance et la constance de celui-ci.

Souvent, cependant, une fonction donnée n'est pas assez constante pour servir de base fixe servant à créer des coupes d'une certaine importance, des genres par exemple. Nous avons vu, en effet, que beaucoup de ces manifestations vitales ne pouvaient être considérées que comme des caractères secondaires, contingents, pouvant même disparaître complètement à un moment donné sans que la vie même de l'espèce soit atteinte. C'est ainsi que bien des espèces chromogènes perdent vite toute propriété de produire du pigment, que des espèces zymogènes deviennent sans action sur les milieux qu'elles font habituellement fermenter, que des espèces pathogènes même deviennent absolument inoffensives pour les animaux les plus réceptifs à leur égard, se transforment, pour ainsi dire, en véritables saprophytes.

On se trouve même alors conduit à réunir ensemble des espèces qui possèdent très marqués les effets en question, pris comme base de la classification, et des espèces où la fonction, très minime, doit bien certainement être reléguée à un rang très inférieur. C'est ainsi que dans le groupe des *Urobactéries* de Miquel, à côté d'espèces qui sont des ferments énergiques de l'urée, cet auteur a été conduit à placer des espèces très peu actives à ce point de vue, chez lesquelles le caractère, pris comme fondamental, devient difficile à constater, très douteux même et certainement tout à fait secondaire.

Ce sont là les gros écueils des classifications dites *physiologiques*.

En résumé, lorsqu'on a isolé une Bactérie qui, au bout de plusieurs générations, se reproduit toujours identique à elle-même, dont on a observé le développement de spore à spore, dont les propriétés physiologiques sont constantes dans les mêmes conditions, on est en droit d'affirmer qu'on est en présence d'une véritable espèce.

La constance des caractères que nous voyons être au premier rang n'est cependant pas absolue. Il faut faire la part très grande aux conditions de la vie, sous peine d'être amené à séparer des êtres qui doivent être considérés comme semblables. Nous avons vu dans quelles limites et sous quelles influences pouvaient varier les propriétés physiologiques d'une même espèce. La propriété de ferment peut disparaître ; la propriété de produire de la couleur, la propriété virulente, peut décroître et s'éteindre ; et cependant c'est toujours la même espèce que l'on observe. Mais alors, point important, nous savons qu'il est nécessaire, pour obtenir ce résultat, d'empêcher la formation de spores, c'est-à-dire la véritable extension de l'espèce, et n'obtenir qu'une extension d'individus par multiplication végétative. La spore qui perpétue l'espèce, qui la continue véritablement, ne s'atténue jamais ; les différentes générations, *issues de spores*, ne varieront jamais dans leurs caractères.

La constance de la forme individuelle doit être envisagée au même point de vue. Il ne faut faire entrer en ligne de compte que des individus dont le développement peut être considéré comme s'étant opéré normalement. Sous l'influence de changements de milieux ou de certains agents physiques, une espèce qui donne normalement des bâtonnets de dimensions parfaitement fixes et constantes pourra produire des élé-

ments sphériques ou à peu près, qui seront facilement pris pour des *Micrococcus*. Une autre formera de longs filaments droits ou irrégulièrement courbés ou pelotonnés, qui simuleront des Bactéries filamenteuses ou spiralées. Il est cependant une condition qui servira de guide sûr et aurait dû détourner tout de suite de ces appréciations fautives : c'est le retour constant à la forme primitive typique, lorsque de tels éléments sont placés dans les conditions de vie que l'on est en droit de considérer comme normales.

Inversement, certaines espèces peuvent affecter une forme plus simple et n'offrir le type complet qu'à de rares phases de l'évolution. C'est ainsi que beaucoup de *Sarcines* ne donnent, dans les cultures sur milieux solides surtout, que des coccus séparés, plus souvent unis par deux, ou rarement par quatre ; on n'obtiendra que rarement les paquets caractéristiques. Souvent, il ne sera possible de les rattacher au type duquel elles descendent qu'en usant des commémoratifs; la colonie première, on a dû le constater, montrant la vraie forme, spéciale au genre. C'est encore ainsi que chez de nombreuses espèces de *Spirilles*, la forme en spirale véritable n'apparaît que dans des conditions spéciales; chez toutes les Bactéries dites en *virgules*, l'élément ne décrit qu'une faible portion de circonférence.

C'est en faisant intervenir des agents qui nuisent considérablement à la vitalité de la *Bactérie du pus bleu*, des antiseptiques énergiques, introduits dans les milieux de culture à dose modérée, que Guignard et Charrin (1) ont obtenu les très intéressantes modifications de formes qu'ils ont décrites et dont il sera parlé plus loin.

Cette facilité de donner des formes différentes a été considérée, par beaucoup d'observateurs, comme étant l'état normal et placée au premier rang des caractères spécifiques par les partisans du *polymorphisme* ou *pléomorphisme* des Bactéries. Pour eux, le nombre des espèces de ce groupe est beaucoup plus restreint qu'on n'est porté à le croire; il n'existerait dans la nature qu'un nombre assez limité de formes spécifiquement distinctes, qui pourraient chacune revêtir, en véritables protées, toute une série de formes secondaires, dépendant du milieu qui leur serait offert. C'est ainsi qu'une espèce qui, dans certaines conditions, aurait des éléments sphériques et devrait dès lors être rangée dans les *Micrococcus*, pourrait, en végétant différemment, donner des bâtonnets, des filaments droits ou spiralés. Chaque espèce posséderait en quelque sorte un cycle d'évolution plus ou moins complet, à formes plus ou moins nombreuses, dans lequel elle pourrait se mouvoir au gré des circonstances.

Zopf (2) a rattaché au développement d'une même espèce, son *Cladothrix dichotoma*, toute une série de formes en coccus, en bâtonnets, en filaments courbés ou spiralés. On a depuis attribué une importance trop générale à cette variété de formes appartenant à un type tout spécial et passablement distinct des autres Bactéries. Les filaments ramifiés, souvent en dichotomie régulière, peuvent être droits ou en partie légèrement courbés ou ondulés, mais non pas véritablement spiralés, comme sur la partie droite de la figure. A un moment donné, la segmentation

(1) GUIGNARD et CHARRIN, Sur les variations morphologiques des microbes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 5 décembre 1887).

(2) ZOPF, Die Spaltpilze, p. 107.

se fait rapidement ; il se forme, par la segmentation des filaments, des

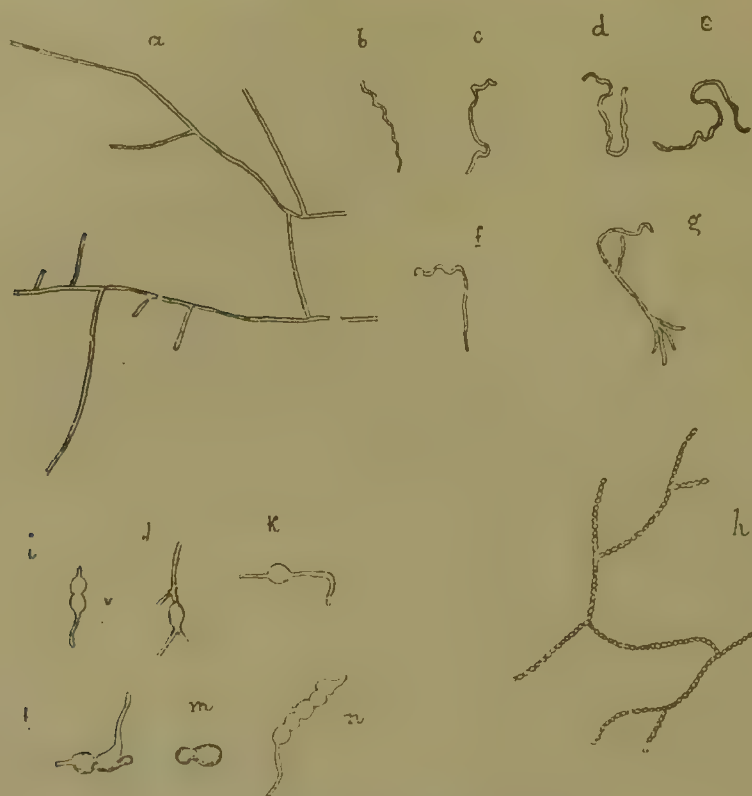


Fig. 153. — *Cladothrix*, 900/1.

a, portion de filament ramifié ; *b*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, parties de filaments diversement contournés ; *h*, filament segmenté en spores ; *i*, *j*, *k*, *l*, *m*, *n*, formes anormales, formes d'involution.

masses rondes auxquelles il ne faut pas donner la signification des

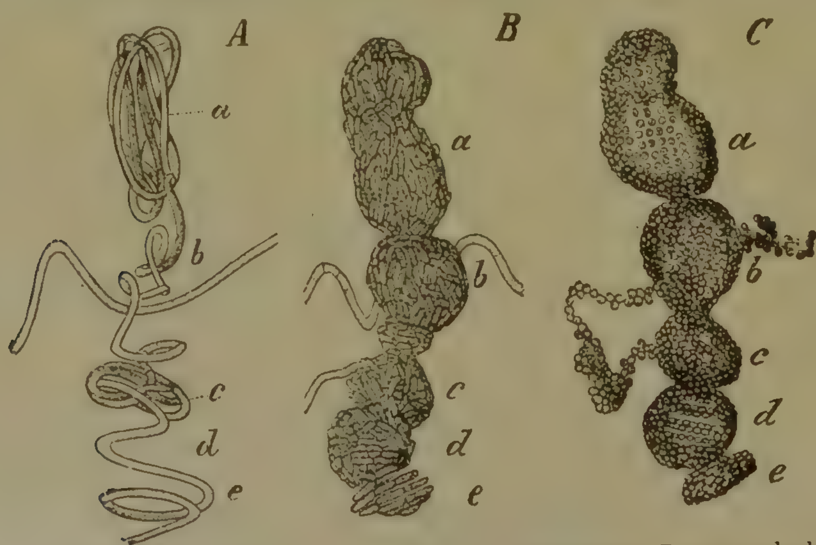


Fig. 154. — *Bacillus Zopfii*, 740/1. — A, filament pelotonné ; B, amas de bâtonnets ; C, amas de coccus (spores) (d'après Kurth).

coccus, mais plutôt de véritables spores. En examinant les faits sans parti pris, on ne peut vraiment trouver là de raison valide en faveur du

polymorphisme, surtout pour la raison suivante : un élément, de forme quelconque du cycle, séparé et mis en culture, fournira toujours du premier coup la forme de filament ramifié, tout à fait caractéristique de cette espèce, celle qui doit être considérée comme normale. Les noms de *Micrococcus*, *Bacillus*, *Leptothrix*, *Spirillum*, dont on s'est servi pour désigner ces phases diverses qu'offre la même espèce (fig. 153), ne doivent pas être employés avec leur véritable signification, mais dans un sens plus général; il est préférable de les remplacer par d'autres termes moins spéciaux, ne pouvant pas prêter à confusion, tels que coccus, bâtonnets, filaments droits, courbés ou spiralés.

Il en est de même pour l'espèce de Bacille décrite par Kurth (1) sous le nom de *Bacterium Zopfii*. Dans les cultures de cette espèce sur milieux solides, on observe fréquemment de longs filaments pelotonnés, dont certaines parties peuvent présenter des ondulations assez régulières, rappelant la forme des longs Spirilles (fig. 154, A). Après peu de temps, ces filaments se segmentent et se transforment en amas serrés de courts bâtonnets (B). Rien d'anormal jusqu'alors; nous savons que beaucoup de Bacilles vrais peuvent donner des filaments plus ou moins longs; de plus, beaucoup de bâtonnets se segmentent en articles courts au moment de produire des spores. Dès que le milieu nutritif est complètement épuisé, les masses primitivement formées de bâtonnets se trouvent constituées par des coccus sphériques qui, d'après l'aveu de Kurth, ne se divisent jamais, mais, placées dans des conditions favorables, germent en donnant des bâtonnets semblables aux premiers et, de plus, présentent une plus grande résistance que les autres formes aux conditions de chaleur et de dessiccation. Ce sont bien là des caractères de spores. Ces éléments doivent, en effet, être considérés comme tels.

Hauser (2) a établi son genre *Proteus* pour des Bacilles présentant des apparences semblables, que l'on observe sous la forme de filaments droits ou ondulés, de courts bâtonnets ou de coccus. Mais, comme dans les recherches précédemment citées de Guignard et Charrin, pour obtenir des variations de formes, il faut placer la Bactérie dans des conditions défavorables, en particulier la faire vivre dans un milieu acide. Les formes décrites comme coccus sont, ici aussi, bien certainement des spores; la forme normale est le bâtonnet. Aucun caractère ne peut encore séparer ces *Proteus* des Bacilles; la forme spéciale de leur zooglée et le lent déplacement de ses ramifications dans les milieux visqueux se retrouvent dans d'autres espèces que personne n'a songé jusqu'ici à soustraire du genre *Bacillus*.

Ces considérations ne se rapportent pas uniquement aux Bactéries, mais s'adressent tout aussi bien aux êtres plus élevés ; elles trouvent à tout instant leur application dans les classifications. Pour ne citer qu'un exemple, touchant de près au sujet en question, de ce qu'un *Penicillium* ou un *Mucor* donne, lorsqu'il végète dans un liquide, des articles arrondis, ovoïdes ou en courts cylindres, personne ne sera tenté de comprendre ces formes dans son évolution normale.

D'un autre côté, il n'est guère possible d'admettre une fixité absolue des caractères que l'on considère comme spécifiques. De nombreux

(1) Kurth, Bacterium Zopfii (*Bot. Zeit.*, 1883).
(2) Hauser, Ueber Fäulnissbacterien. Leipzig, 1885.

exemples (1) prouvent, au contraire, qu'à côté des caractères physiologiques que nous savons variables, les caractères morphologiques eux-mêmes ne nous montrent pas une fixité absolue. Dans ces conditions, dont quelques-unes seulement sont déterminées, la forme, les dimensions se modifient, alors que les autres propriétés qui subsistent montrent bien qu'on a affaire à la même espèce. C'est ce qui arrive pour le *Bacille pyocyanique* dans les expériences de Guignard et Charrin; c'est ce qui arrive pour d'autres espèces pathogènes où l'on est conduit alors à admettre la présence de types divers dans une même espèce, de véritables *races*. Mais ces modifications ne se produisent *que dans des conditions déterminées* et se tiennent entre certaines limites; elles ne suppriment pas la valeur et l'importance du type spécifique normal, pas plus que les races d'animaux obtenues par l'intervention de l'homme ne peuvent infirmer la notion du type spécifique dont elles sont sorties.

Cienkowsky (2), naturaliste de valeur, en se basant sur des idées purement théoriques, se rattache entièrement à la théorie du polymorphisme. Pour lui, toutes les formes de Bactéries se ramènent à trois fondamentales : une *Beggiatoa*, un *Leptothrix* et un *Cladothrix dichotoma*, qui seraient des Algues de la famille des *Oscillaires*. Aucun fait positif n'a été donné à l'appui de cette théorie que des faits positifs démentent d'une façon certaine ; l'auteur n'a du reste jamais employé de cultures pures.

Pour Billroth (3), la simplification est plus grande encore. Toutes les soi-disant espèces de Bactéries ne sont, suivant lui, que des modalités différentes d'une seule et même espèce, douée d'un polymorphisme excessif, la *Coccobacteria septica*. La preuve directe reste toujours à fournir.

On est donc en droit actuellement d'affirmer l'existence de véritables espèces parmi ces êtres, et pour les établir, avec de grandes présomptions au moins, il n'est pas absolument nécessaire de connaître toutes les phases de leur développement. Ehrenberg a bien délimité, dans le groupe si nombreux des Infusoires, des genres et des espèces durables, tout en ne connaissant chez eux que la multiplication par division. Il ne faudrait cependant pas croire que toutes les formes décrites aujourd'hui commes espèces doivent en avoir réellement la valeur. Il est probable que des études approfondies conduiront à rapprocher et à rapporter au même type spécifique des formes que des recherches superficielles avaient tenues éloignées. Mais il est bien certain qu'on aura plus souvent des résultats inverses à signaler. Beaucoup d'espèces actuelles, c'était déjà l'opinion de Davaine (4), sont des types sous lesquels se cachent plusieurs espèces.

En partant de cette dernière idée, on arrive à reconnaître qu'il existe entre diverses catégories d'espèces des ressemblances très marquées et, en les rapprochant, à constituer ce qu'on peut appeler des *groupes*, où

(1) RODET, De la variabilité dans les microbes, au point de vue morphologique et physiologique. Paris, J.-B. Baillière, 1894.

(2) CIENKOWSKY, Zur Morphologie der Bacterien (*Mém. de l'Acad. imp. des sc. de Saint-Pétersbourg*, XXV, n° 2, 1877).

(3) BILLROTH, Untersuchungen über die Vegetationsformen der Coccobacteria septica. Berlin, 1874.

(4) DAVAINE, *Dict. encycl. des sc. méd.*, art. BACTÉRIES, 1868.

l'on réunit, autour d'une espèce donnée qu'on peut considérer comme chef de file, celles qui semblent s'y rattacher. Quelle peut être la valeur réelle de cette conception ? Il est difficile de se prononcer actuellement. Ces groupes peuvent être les analogues des sous-familles des classificateurs. Ou bien, il peut exister, entre les espèces d'un groupe, des liens plus étroits; elles peuvent dériver d'un seul et même type primitif, et tendre à s'individualiser par suite de la fixation de certains caractères primitivement transitoires. Tout cela peut, il est vrai, n'être que de simples hypothèses.

Voici les principaux groupements qui paraissent les plus rationnels :

Groupe du *Bacillus subtilis.*

Bacillus subtilis.
Bacillus mesentericus vulgatus.
Bacillus mesentericus fuscus.
Bacillus mesentericus ruber.
Bacillus mesentericus niger.
Tyrothrix tenuis.
Tyrothrix distortus.
Bacillus megaterium.
Bacillus mycoides.
Bacillus anthracis.

Groupe du *Bacillus coli communis.*

Bacillus coli communis.
Bacillus typhosus.
Bacillus lactis aerogenes.
Bacillus Friedlaenderi.
Bacillus fæcalis alcaligenes.
Bacillus icteroides.
Bacille de la psittacose.
Bacillus lacticus.
Bacillus actinobacter.
Divers autres *Bacilles capsulés.*

Groupe des *Bacilles fluorescents.*

Bacillus fluorescens liquefaciens.
Bacillus fluorescens putridus.
Bacillus pyocyaneus.
Bacillus syncyanus.
Bacillus chlororaphis.

Groupe des *Proteus.*

Proteus vulgaris.
Proteus mirabilis.
Proteus Zenkeri.
Bacillus Zopfii.

Groupe du *Bacillus tuberculosis.*

Bacillus tuberculosis.
Bacillus lepræ.
Bacillus mallei.
Bacillus diphteriæ.
Bacille du smegma.

Groupe des *Septicémies hémorragiques.*

Bacille du choléra des poules.
Bacille du rouget du porc.
Bacille de la pneumo-entérite du porc.
Bacille de la peste porcine.
Bacille de la septicémie du lapin.
Bacille de la septicémie des furets.
Bacille de la peste bovine.
Bacillus typhi murium.
Bacille de la peste bubonique.
Bacille de l'influenza.

Groupe du *Vibrion butyrique.*

Bacillus butyricus (type).
Bacillus septicus.
Bacillus Chauvæi.
Bacillus tetani.
Bacillus botulinus.
Bacillus enteritidis sporogenes.
Divers *Clostridium.*
Tyrothrix urocephalus.
Tyrothrix catenula.
Tyrothrix claviformis.

Il est difficile de pousser plus loin les groupements; la plupart des espèces restent en dehors, c'est là la grosse objection à produire.

L'établissement des coupes de degré supérieur est moins absolu encore que celui des espèces. La création d'un de ces groupes, genre ou famille, ne peut se faire avec quelque certitude qu'après connaissance de toutes les unités qui doivent le composer, ou au moins du plus grand nombre d'entre elles. Or, pour ces êtres, on est bien loin d'en être arrivé là; il reste certainement plus d'espèces inconnues qu'il en existe de décrites.

Cohn (1), en 1882, a donné un premier essai de classification des Bactéries, basé exclusivement sur la forme apparente. Il en formait quatre tribus :

Les *Sphérobactéries*, ou Bactéries sphériques, ne renfermant que le genre *Micrococcus* ;
Les *Microbactéries*, ou Bactéries en courts bâtonnets, comprenant le genre *Bacterium* ;
Les *Desmobactéries*, ou Bactéries filamenteuses, avec les genres *Bacillus* et *Vibrio* ;
Les *Spirobactéries*, ou Bactéries spiralées, avec les deux genres *Spirillum* et *Spirochæte*.

Plus tard, ce même savant (2), frappé des affinités que certaines Bactéries présentent avec des Algues de la famille des *Oscillariées* principalement, les réunit dans sa classe des *Schizophytes*, rangeant dans un même système très compliqué des êtres qui étaient évidemment bien distincts.

Ce n'était qu'un premier pas vers une classification rationnelle. Le grand tort en était de séparer par trop des formes voisines comme les *Bacterium*, *Bacillus*, *Vibrio*. Zopf (3) a imaginé un classement en familles, qui tient compte en partie des considérations précédentes, tout en faisant trop grand cas de certains caractères peu précis. C'est la forme qui tient encore le premier rang; vient ensuite la présence ou l'absence des spores, ne pouvant fournir une base bien solide à cause du peu de données certaines que l'on possède ; enfin, comme distinction très importante, il donne ces prétendues variations de formes, sur l'appréciation desquelles on est bien loin de s'entendre. Il range les Bactéries dans les quatre familles suivantes :

1° Coccacées. Ne possédant que des coccus isolés ou réunis en chaînes. — Pas de spores connues. La division se fait suivant une ou plusieurs directions.

Genres : *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Merismopedia*, *Sarcina*, *Ascococcus*.

2° Bactériacées. Possèdent des coccus, des bâtonnets droits ou courbés. On ne peut distinguer aux filaments ni partie basilaire,

(1) Cohn, Untersuchungen über Bacterien (*Beitr. zür Biol. der Pflanzen*, 1re et 2e parties, p. 127, 1882).
(2) Id., *Ibid.*, 3e p., p. 202.
(3) Zopf, Die Spaltpilze, p. 50.

ni sommet. La division se fait suivant une seule direction. On connaît des spores chez beaucoup.

Genres : *Bacterium*, *Spirillum*, *Vibrio*, *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Clostridium*.

3° Leptothricées. Des coccus, des bâtonnets et des filaments droits ou courbés, auxquels on trouve une différenciation en partie basilaire et sommet. Les spores sont peu connues.

Genres : *Leptothrix*, *Beggiatoa*, *Crenothrix*, *Phragmidiothrix*.

4° Cladothricées. Des coccus, des bâtonnets, des filaments et des formes spiralées. Les filaments sont unis en fausses ramifications. Les spores sont peu connues.

Genre : *Cladothrix*.

Bien des objections sont à faire à ce système qui, toutefois, satisfait plus l'esprit que les divers essais de Cohn. Nous avons discuté précédemment la valeur de ces variations de formes, servant ici de caractère important; nous n'y reviendrons pas.

Des cinq genres de la famille des Coccacées, les trois premiers ne peuvent pas être conservés comme distincts. Nous avons rejeté le genre *Streptococcus*. Le genre *Merismopedia* est aussi à confondre avec celui qui le précède; ce sont des *Micrococcus* disposés en tétrades ; or, nous savons que cet arrangement est fréquent, mais très irrégulier. Le genre *Leuconostoc*, que Zopf range dans la famille des Bactériacées, présente beaucoup plus d'affinités avec les genres de la famille des Coccacées.

La famille des Bactériacées est plus homogène. Le nombre des genres doit cependant en être réduit. Il n'est plus possible de séparer un genre *Bacterium* du genre *Bacillus* ; les seuls caractères de longueur, sur lesquels il est établi, ont une valeur trop secondaire et ne présentent du reste aucune constance. Le genre *Vibrio* se confond avec le genre *Spirillum*. Enfin, le genre *Clostridium*, créé par Prazmowski pour le *Bacillus butyricus*, caractérisé par le renflement des articles à l'endroit où se produit la spore, ne peut guère être maintenu, vu le peu de constance qu'offre cette particularité. Beaucoup de véritables *Bacillus*, en effet, montrent tous les intermédiaires entre le bâtonnet sporifère de forme ordinaire et le même article renflé à l'endroit de la spore. Avant d'avoir des notions plus complètes sur un nombre suffisant d'espèces, il paraît téméraire de subdiviser un groupe aussi homogène que paraît l'être le genre *Bacillus*.

C'est surtout la troisième famille, celle des Leptothricées, qui est mal composée. A côté des *Leptothrix*, qu'aucun caractère ne sépare des Bactériacées, se trouvent placés des organismes absolument différents des autres Bactéries. Les *Beggiatoa* et *Crenothrix* doivent être rapprochées des Algues et classées près des Oscillariées dont elles ne diffèrent que par l'absence de chlorophylle et du pigment spécial, la phycocyanine.

Quant aux *Cladothrix*, elles paraissent très voisines des *Leptothrix*; la disposition ramifiée des filaments, toute secondaire, ne suffit pas à légitimer une semblable distinction.

C'est parmi les *Cladothrix* qu'il faut placer les *Actinomyces*, qui s'en rapprochent par bien des caractères de réelle valeur.

En se basant sur les raisons exposées, il semble plus rationnel de diviser le groupe des Bactéries en deux familles de la façon suivante :

1[re] famille : Coccacées. — Bactéries à éléments normalement sphériques se reproduisant d'habitude par division, quelquefois par spores. La division peut se faire suivant une ou plusieurs directions.

Genres : 1. *Micrococcus*, éléments sphériques, isolés, réunis par deux ou plus ou disposés en chapelets.

2. *Sarcina*, éléments formant des paquets cubiques provenant de la division qui se fait en trois directions.

3. *Ascococcus*, éléments réunis en colonies massives, entourées d'épaisses enveloppes de gelée.

4. *Leuconostoc*, éléments disposés en chaînes, enveloppées d'une gaine de gelée.

2[e] famille : Bactériacées. — Éléments en bâtonnets plus ou moins longs, parfois en très courts cylindres, ou en filaments. Les articles sont droits ou courbés et ne présentent aucune distinction en partie basilaire et sommet. Beaucoup ont de vraies spores endogènes.

Genres : 1. *Bacillus*, éléments en bâtonnets qui peuvent être courts et trapus ou dont la longueur excède un certain nombre de fois l'épaisseur.

2. *Spirillum*, éléments courbés, formant souvent une spire à plusieurs tours.

3. *Leptothrix*, éléments formant des filaments droits, parfois très longs.

4. *Cladothrix*, longs filaments présentant des ramifications latérales.

La classification qui vient d'être exposée est loin de devoir être considérée comme définitive. Elle a surtout pour objet d'exprimer les rapports que l'on sait aujourd'hui exister entre les formes suffisamment décrites, et d'en faciliter la description et la recherche. Sous ce dernier rapport, un groupement tant soit peu rationnel est d'une utilité incontestable. Ce n'est, en effet, qu'en établissant des points de repère plus sûrs et en se conformant dans les descriptions aux règles admises pour toutes les classifications, qu'il sera possible de mettre un peu d'ordre dans la liste, déjà bien longue, des espèces connues actuellement. Beaucoup de bons travaux, en particulier, ne donnent pas les résultats que l'on était en droit d'en attendre, par cette raison que leurs auteurs n'ont malheureusement pas assez cherché à caractériser les espèces qui ont fait le sujet de leurs recherches, ce qui ne permet pas de les reconnaître facilement.

1[re] famille. — COCCACÉES.

Les cellules des Bactéries qui constituent cette première famille sont normalement sphériques ou légèrement ovoïdes, parfois asymétriques, l'un des côtés étant aplati. On n'observe de formes allongées que dans des conditions tout à fait anormales ; ce sont de véritables formes d'involution. La formation de spores n'est connue que chez quelques

espèces. Chez le *Leuconostoc mesenteroides*, certains éléments des chaînes de coccus grandissent, prennent une paroi épaisse et un contenu réfringent, caractères habituels des spores ; ce sont des spores d'un type spécial, des *arthrospores*, issues de la transformation totale de l'élément mère. Des *endospores* ont été décrites chez quelques autres espèces. Hauser (1) en a observé chez une *Sarcine*, présentant bien nettement la double coloration propre aux spores d'autres Bactéries et supportant sans périr une température de 100 degrés. Prove (2) signale chez le *Micrococcus ochroleucus* la formation de spores, qui, à la maturité, ont un diamètre double de celui de l'élément mère. Sauf les trois cas cités, la formation d'éléments reproducteurs résistant et durables n'est connue dans aucune autre espèce. Le procédé habituel de multiplication est la division qui peut se faire tantôt dans une seule direction, tantôt dans plusieurs (Voy. p. 55). Dans le premier cas, les éléments issus de la divison peuvent se séparer, ou rester unis à deux ou plusieurs; ils forment, selon leur disposition, des amas irréguliers, des couples ou des chapelets. Si la division se fait suivant deux plans perpendiculaires, un élément se partageant crucialement en donne quatre ; on obtient alors une petite tablette qui peut être composée d'un grand nombre d'éléments, lorsque le phénomène s'est répété un certain nombre de fois. Enfin, une cellule mère peut se diviser successivement, suivant trois plans perpendiculaires, et donne ainsi huit cellules filles qui restent unies et se multiplient à leur tour de la même façon ; c'est ainsi que se forment les amas cubiques de *Sarcines*, composés souvent d'un nombre considérable d'éléments.

La famille des Coccacées comprend quatre genres, caractérisés de la façon suivante :

1er genre : *Micrococcus*. — Cellules rondes ou ovoïdes, isolées ou réunies par deux, en chapelets d'un nombre variable d'éléments ou en tétrades. La division s'opère suivant une ou deux directions.

2e genre : *Sarcina*. — Cellules sphériques ou ovoïdes, chez lesquelles la division s'opère dans trois directions et donne alors des masses cubiques plus ou moins volumineuses.

3e genre : *Leuconostoc*. — Cellules rondes, réunies en chapelets entourés d'une épaisse gaine de gelée : il se forme des arthrospores.

4e genre : *Ascococcus*. — Cellules rondes, réunies en familles ovoïdes et irrégulières, enfermées dans une enveloppe épaisse de substance gélatineuse de consistance de cartilage.

1er GENRE : **MICROCOCCUS** COHN.

Le nom générique est de Hallier, qui comprenait sous cette dénomination, à côté des Bactéries sphériques, un grand nombre de formes bien différentes. C'est Cohn qui a fixé ses caractères et lui a assigné les larges limites qu'on peut encore lui reconnaître aujourd'hui. Les espèces

(1) HAUSER, Ueber Lungensarcine (*Deutsche Arch. für klin. Med.*, XLII, 1887, p. 127).
(2) PROVE, Micrococcus ochroleucus, eine neue chromogene Spaltpilze (*Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, 1887, 4e vol., 3e p., p. 409).

qui le composent ont les cellules sphériques ou légèrement elliptiques, peut-être ovoïdes, de forme parfaitement régulière ou un peu irrégulière ; un élément prêt à se diviser peut même avoir la forme d'une ellipse allongée ou d'un court bâtonnet à extrémités arrondies. Les cellules issues de la division se comportent de diverses façons. Elles peuvent se séparer aussitôt, elles forment alors des amas dont les éléments n'ont entre eux aucune cohérence. Bien qu'en se séparant dès que la scission est complète, elles peuvent rester accolées les unes aux autres en nombre variable, donnant des figures irrégulières qui ont été comparées, d'une façon assez peu heureuse, à des grappes de raisins et dénommées pour cette raison *Staphylococcus* (σταφυλή, grappe). Ces cellules filles restent souvent unies deux par deux ; chez beaucoup d'espèces qui présentent cette disposition, les éléments isolés sont rares ; on n'y observe généralement que des couples, formés de deux coccus accolés, se comportant en tout point comme s'ils ne constituaient qu'un seul individu ; il faut parfois une grande attention et de puissants objectifs pour se rendre compte de la présence de deux éléments. Cette dernière forme a été appelée *Diplococcus* (διπλόος, double). Lorsque deux couples s'accolent latéralement, il se forme une tétrade. Les éléments peuvent rester unis en files plus ou moins longues, et former des chapelets dont la grandeur varie suivant le nombre des articles qui les constituent ; on a donné à cette disposition le nom de *Streptococcus* (στρεπτὸς, sinueux). On a voulu faire de ces particularités de véritables caractères génériques, en leur attribuant une importance qu'ils ne semblent pas avoir, et s'en servir pour établir des coupes dans le genre *Micrococcus*, tel que nous le comprenons ici. Les rapports qu'affectent les éléments les uns avec les autres sont trop souvent sujets à des variations, dont les causes nous échappent encore totalement jusqu'ici, pour qu'on puisse raisonnablement les placer en première ligne. Les conditions de milieu influent considérablement sur elles ; telle espèce qui, cultivée sur un milieu solide, donnera des chaînettes ou des diplococcus, transportée dans un milieu liquide n'y montrera que des éléments isolés. Du reste, une même espèce peut offrir côte à côte ces trois formes dans une même culture, ce qui prouve bien le rôle secondaire de la disposition des éléments pour la classification. Enfin, les mêmes faits se retrouvent absolument chez les Bactéries en bâtonnets, sans qu'on ait jugé bon de se conformer aux indications qu'ils semblent fournir. La valeur de ces formes est cependant réelle et peut être d'un grand secours dans la diagnose et dans la différenciation, souvent si difficile, d'espèces se ressemblant par leurs caractères de cultures. Les dénominations sont donc à conserver, mais sans attribution de valeur générique.

Prove (1) a décrit la formation de spores chez le *Micrococcus ochroleucus*, espèce qu'il a isolée de l'urine. Jusqu'alors elles n'étaient connues chez aucune espèce de *Micrococcus*. Il est probable que les perfectionnements de la technique permettront d'en observer la production chez d'autres.

Citons enfin, comme caractère moins important et moins intéressant à connaître, le peu de tendance des *Micrococcus* à former des voiles à la

(1) Prove, Micrococcus ochroleucus, eine neue chromogene Spaltpilze (*Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, 1887, 4e vol., 3e p., p. 409).

surface des liquides. Ils se précipitent d'habitude au fond du vase en un sédiment plus ou moins consistant, blanc ou coloré. De plus, les espèces mobiles ne présentent jamais le mouvement vif et rapide qu'offrent certaines Bactéries en bâtonnets; le mouvement des *Micrococcus* est presque toujours une trépidation, qui n'occasionne d'habitude qu'un déplacement peu considérable.

Pour plus de commodité dans la description des nombreuses espèces de *Micrococcus*, et uniquement pour faciliter les recherches, nous les grouperons, à l'exemple de Cohn, d'après leur action physiologique.

Nous étudierons, dans un premier groupe, les espèces rencontrées dans les maladies de l'homme et des animaux, en réunissant aux espèces véritablement pathogènes d'autres qui ne paraissent avoir aucune action nuisible sur l'organisme malade ou même normal, mais qui ne se rencontrent pas en dehors de lui. Telles sont, par exemple, certaines espèces isolées du pus. Plusieurs espèces, en effet, qui, se trouvant dans l'organisme, semblent n'exercer sur lui aucune action nuisible, peuvent très probablement, par leur pullulation excessive, dans des conditions qui leur sont défavorables, devenir de véritables parasites, gênants ou même offensifs. Les *Micrococcus* qui produisent des pigments sont plus intéressants à étudier ensemble. Dans un troisième groupe, nous comprendrons les espèces qui occasionnent des fermentations et d'autres dont l'action physiologique nous est encore inconnue.

Nous grouperons donc les espèces du genre *Micrococcus* sous les rubriques suivantes, auxquelles, répétons-le, nous n'attribuons aucune valeur dans la classification : 1° Micrococcus pathogènes; 2° Micrococcus chromogènes; 3° Micrococcus ferments ou à action indifférente.

MICROCOCCUS PATHOGÈNES.

ESPÈCES OCCASIONNANT LA SUPPURATION.

La suppuration a été considérée pendant longtemps comme une suite ou une conséquence de l'inflammation des tissus, aboutissant à la nécrose et à l'élimination des parties enflammées.

C'est Pasteur (1) qui a annoncé le premier, en 1881, que la production du pus pouvait être la conséquence directe de la vie dans les tissus de Bactéries pouvant être multipliées en dehors de l'organisme par des procédés de culture artificiels et reproduisant des altérations semblables lorsqu'on les fait pénétrer par inoculation dans les tissus vivants. En cultivant, dans du bouillon, du pus de furoncles et d'ostéomyélite, il obtint le développement de Microcoques ronds, qui, inoculés aux lapins, reproduisaient chez ces animaux des phénomènes locaux de suppuration.

Peu après, Ogston (2), Rosenbach (3) et Passet (4) isolaient du pus

(1) PASTEUR, De l'extension de la théorie des germes à l'étiologie de quelques maladies communes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, t. CX, 1880, p. 1033).

(2) OGSTON, Report upon Microorganismen in surgical Disease (*The British med. Journ.*, 12 mars 1881).

(3) ROSENBACH, Mikroorganismen bei den Wundinfections Krankheiten der Menschen. Wiesbaden, 1884.

(4) PASSET, Untersuchungen über die Aetiologie der eitrigen Phlegmone des Menschen. Berlin, 1885.

plusieurs espèces de Bactéries, que les caractères des cultures permettaient de distinguer facilement.

Des recherches de ces observateurs et d'autres, nombreux, qui vinrent confirmer les résultats qu'ils avaient annoncés, il parut ressortir bien nettement que la suppuration était toujours sous la dépendance directe des microbes. C'est ce que vinrent confirmer encore des expériences d'injection, dans les tissus, de substances irritantes, privées de tout germe par une stérilisation soignée; en première ligne, on doit citer celles de Straus (1). En introduisant sous la peau de lapins, de rats, de cobayes, des substances irritantes, très diverses, soigneusement stérilisées, ce savant n'observait jamais de suppuration, sauf dans quelques cas où il s'était produit une infection accidentelle, car le pus contenait les Bactéries ordinaires de la suppuration. Straus expérimenta avec l'essence de térébenthine, l'huile de croton, l'eau chaude, le mercure, des morceaux de drap ou de moelle de sureau. Toutes les précautions antiseptiques furent prises pour faire pénétrer la substance dans la peau. Ces résultats furent une confirmation de l'opinion, alors en cours, qu'il ne pouvait y avoir production de pus sans microbes.

Depuis, des recherches nouvelles ont donné des résultats quelque peu contradictoires, qui doivent faire admettre sur ce point une opinion moins exclusive et prouvent que, dans des conditions particulières, certaines substances, certains composés chimiques, peuvent produire dans un tissu une inflammation suivie de suppuration vraie, sans qu'on puisse faire intervenir une action microbienne.

Councilmann (2) le prouve en introduisant sous la peau de lapins de petites ampoules de verre très fragiles, remplies d'huile de croton. L'opération est faite avec toutes les précautions antiseptiques possibles; la plaie guérit facilement ; le mince corps étranger n'exerce aucune réaction sur les tissus. Après guérison parfaite, l'ampoule est brisée par un choc ; le liquide se répand et vient au contact des tissus. Il se forme, à ces endroits, de petits abcès dont le pus, soigneusement examiné, ne montre jamais de Bactéries et reste stérile en cultures.

Grawitz (3) est arrivé à la même conclusion en injectant dans les tissus des substances liquides. Les solutions de sublimé corrosif, des acides ou des alcalis étendus, l'alcool fort ou absolu, n'ont déterminé aucune suppuration. Le nitrate d'argent, l'essence de térébenthine, ont occasionné la formation d'abcès dans le tissu cellulaire du chien ; une solution de cadavérine a produit également de la suppuration. Dans tous ces cas positifs, le pus ne contenait jamais de microbes.

Christmas (4) a obtenu des résultats positifs semblables, mais toutefois plus restreints. Dans ses expériences, faites à l'Institut Pasteur, l'essence de térébenthine, le mercure, le pétrole, le chlorure de zinc à 10 p. 100, le nitrate d'argent à 5 p. 100, n'ont rien produit, inoculés sous la peau de lapins. Une seule fois l'essence de térébenthine

(1) Straus, Du rôle des microorganismes dans la production de la suppuration (*Soc. de Biol.*, 13 décembre 1883).

(2) Councilmann, Zur Aetiologie der Eiterung (*Wirchow's Arch.*, 1883).

(3) Grawitz, *Virchow's Arch.*, t. CVIII et CX, 1887.

(4) Christmas, Recherches sur la suppuration (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, II, 1888, p. 469).

produisit de la suppuration, mais le pus était plein de Microcoques, ce qui prouvait qu'il y avait eu une contamination accidentelle pendant les opérations. En inoculant les mêmes substances dans la chambre antérieure de l'œil du lapin, même résultat négatif, sauf pour le mercure. Cinq centigrammes de mercure stérilisé à 160°, introduits dans la chambre antérieure de l'œil, donnent rapidement lieu à une formation de pus en quantité notable. Les cultures et la recherche microscopique, avant et après coloration, ne décèlent aucune Bactérie.

Chez le chien, le même expérimentateur est arrivé à des résultats bien différents, sans doute en raison de la facilité avec laquelle le tissu conjonctif sous-cutané s'enflamme et suppure chez cet animal. Le nitrate d'argent, l'essence de térébenthine, le mercure, ont donné lieu à une suppuration abondante et dans quelques cas ont produit de véritables abcès aigus, en tout comparables à ceux qu'occasionnent les microbes habituels du pus.

Enfin, des cultures de l'une des Bactéries les plus communes du pus, le *Micrococcus pyogenes aureus*, stérilisées à 100°, ont rapidement causé chez les chiens des abcès sous-cutanés. Ces cultures ne renfermaient aucun microbe revivifiable et le pus produit n'en contenait pas plus. L'effet produit ici est donc dû à une substance sécrétée par le microbe. Ces propriétés pyogènes sont détruites par le chauffage à 120° dans l'autoclave.

Christmas a pu isoler la substance pyogène, en précipitant par l'alcool des bouillons filtrés sur bougie Chamberland. Il se produit un précipité floconneux, qui, lavé à l'alcool puis redissous dans l'eau, produit une très minime suppuration par inoculation dans la chambre antérieure de l'œil du lapin. Grawitz, on l'a vu plus haut, avait déjà obtenu chez le chien de la suppuration sans microbes en injectant sous la peau des solutions de cadavérine.

Depuis, on a retrouvé dans les cultures de plusieurs espèces de Bactéries, de ces substances pyogènes appartenant aux groupes des toxalbumines ou des ptomaïnes. Büchner (1) en a signalé chez des espèces très diverses, entre autres le *Pneumocoque de Friedlaender*, le *Bacille du charbon*, le *Bacille de la morve*. Koch (2) en a découvert une dans les produits de culture du *Bacille de la tuberculose*.

Il semble, d'après cela, qu'on doive considérer la suppuration comme le simple effet d'une réaction des tissus contre certaines substances, composés chimiques ou produits sécrétés par des êtres vivants. Et ces êtres vivants peuvent ne pas être que des Bactéries; d'après Kartulis (3), la suppuration du foie dans la dysenterie serait occasionnée par les Amibes qu'il considère comme l'agent spécifique de l'affection et qui se rencontrent en très grande abondance dans l'intestin. On connaît des Mucédinées pyogènes et des Levures pyogènes (4). Des Protozoaires, des Coccidies, des Myxosporidies, peuvent aussi déterminer la suppuration.

(1) Buchner, *Berl. klin. Wochenschr.*, 28 juillet 1890.

(2) Koch, Communications sur le traitement de la tuberculose, 1890 et 1891.

(3) Kartulis, Ueber tropische Leberabcesse und ihr Verhältniss zur Dysenterie (*Virchow's Arch.*, CXVIII, 1890, p. 97).

(4) Grasset, Champignon pyogène parasite de l'homme (*Arch. de méd. expér.*, 1893). — Auché et Le Dantec, Mucédinée pyogène (*Arch. de méd. expér.*, 1895). — Nesczadimenko, Zur Pathogenese der Blastomyceten (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 55).

Quoi qu'il en soit, dans la pratique habituelle, on ne rencontre que des suppurations produites par des microbes; la production du pus est toujours liée à la pénétration dans l'organisme de microbes pyogènes. Même dans ce cas, cependant, le pus peut être amicrobien ou plutôt stérile, la suppuration pouvant être la conséquence de produits qui imprègnent les restes de microbes détruits pour une raison ou pour une autre (1). Les expériences pour ou contre le pus sans microbes sont également vraies; elles résultent de la différence dans les animaux d'expérience choisis, car les propriétés chimiotactiques des leucocytes varient avec les espèces, et le mécanisme de la suppuration par les microbes n'est qu'un phénomène de chimiotaxie positive provoqué par leurs toxines ou d'autres substances irritantes; les leucocytes sont attirés vers l'endroit en cause, il s'y forme un abcès.

La propriété pyogène, on vient déjà de le voir, est dévolue à un assez grand nombre d'espèces de Bactéries. Certaines, très communes dans le pus, sont considérées à juste titre comme étant les véritables agents de la suppuration. La plupart sont des *Micrococcus*, ce sont les *Micrococcus pyogenes aureus*, *M. pyogenes albus*, *M. pyogenes citreus*, *Micrococcus cereus albus*, *M. cereus flavus*, ces deux derniers n'occasionnant jamais la suppuration par eux-mêmes, mais accompagnant fréquemment les précédents, *Micrococcus pyogenes*, *Micrococcus pyogenes tenuis*; une seule est un court Bacille, *Bacillus pyogenes fœtidus* (2). Le *Bacille typhique*, le *Colibacille*, déterminent souvent des suppurations. Ces espèces paraissent très répandues dans la nature; en dehors des êtres qu'elles attaquent, leur répartition est cependant peu connue. Pasteur a isolé de l'eau de Seine un Microcoque pyogène, son *Vibrion pyogène*, qui n'a pas été retrouvé depuis. C'est un coccus ovalaire, disposé souvent en diplocoques, dont les cultures, injectées dans le sang, déterminent une pyémie typique rapidement mortelle. J'ai signalé dans une eau de puits la présence du *Micrococcus cereus albus* (3). Plus récemment, Ullmann (4) a signalé la présence du *Micrococcus pyogenes aureus* dans l'air, dans l'eau de rivière et de pluie, mais pas dans l'eau de source, dans la glace, dans la terre mais rarement, à la surface des murs. Depuis, on l'a retrouvé un peu partout, à la surface du corps en particulier; il en est de même du *Streptocoque pyogène*. Cette large répartition dicte d'emblée quelles grandes précautions il faut prendre lorsqu'on veut éviter l'infection.

Les Bactéries pyogènes peuvent évoluer simplement dans des foyers circonscrits, elles ne produisent alors qu'une action locale; ou bien, du point primitif d'introduction, se répandre dans la circulation par voie sanguine ou lymphatique et produire des phénomènes graves d'infection, étudiés sous les désignations de *pyémie* ou de *septicémie*. Ces états morbides peuvent être de véritables intoxications dues à l'arrivée dans le sang de produits toxiques, ptomaïnes ou toxalbumines, résidus de l'activité vitale des Bactéries. Dans d'autres cas, l'action se concentre

(1) Roger et Bonnet, Suppuration amicrobienne (*Soc. méd. des hôpitaux*, 5 juillet 1895).

(2) Kareinski, Statistischer Beitrag zur Kenntniss der Eiterungserreger bei Menschen und Thieren (*Centralbl. für Bakt.*, VII, 1890, p. 113).

(3) Macé, *Ann. d'hyg.*, 1888.

(4) Ullmann, Die Fundorte der Staphylokokken (*Zeitschr. für Hygiene*, IV, 1888).

sur certains organes, loin du point de pénétration, où il se forme des foyers secondaires d'inflammation, des *abcès métastatiques*.

Ces agents infectieux parviennent dans l'organisme par des voies diverses. La plupart du temps, c'est par une solution de continuité, quelque petite qu'elle soit; ce peut être une simple écorchure tout aussi bien qu'une plaie à grande surface; c'est, dans le cas d'infection puerpérale, la large plaie utérine, produite par la chute du placenta. La peau saine, ne présentant aucune solution de continuité, n'est même pas une barrière absolue opposée à l'invasion ; les expériences de Garré (1), qui a pu déterminer sur son bras la formation d'un anthrax, en frottant simplement la peau de cette partie avec une culture pure d'ostéomyélite, le prouvent amplement. Les Bactéries pénètrent alors en premier lieu dans les canaux excréteurs des glandes cutanées et, de là, envahissent les couches profondes. Souvent l'effet est immédiat ; dans les auto-inoculations de Garré, l'inflammation a atteint en quelques jours son summum d'intensité. Parfois, au contraire, les accidents déterminés par l'infection primitive sont nuls ou peu appréciables ; les germes pathogènes sommeillent pour ainsi dire dans l'organisme jusqu'à ce que se produisent des modifications spéciales qui en provoquent la pullulation C'est ainsi, d'après Verneuil (2), qu'une simple contusion, sans la moindre déchirure, même superficielle, provoquerait l'apparition d'une ostéomyélite dont les germes seraient depuis longtemps enfermés dans l'organisme en état de *microbisme latent*. Nous savons, par les recherches de Duclaux (3), que les Bactéries, lorsqu'on écarte les conditions de végétation qui les affaiblissent, lorsqu'on les conserve par exemple dans un milieu nutritif épuisé en ne laissant à leur disposition qu'une proportion très faible d'oxygène, conservent pendant un temps très long leur puissance végétative et leur virulence. Or, la même protection peut leur être donnée dans l'organisme où elles conservent alors longtemps leurs propriétés pathogènes, qui peuvent se manifester dès que se produisent des circonstances favorables au développement.

MICROCOCCUS PYOGENES AUREUS Rosenbach.

(*Staphylococcus pyogenes aureus*; *Staphylocoque doré*.)

Atlas de microbiologie, Pl. viii.

Ce microbe a probablement été isolé et cultivé la première fois par Pasteur (4) qui, en 1878, l'a isolé de l'eau de Seine et du pus de furoncle et d'ostéomyélite sous le nom de *Vibrion pyogénique*. Il a été bien décrit par Ogston (5), en 1881, qui lui a attribué le nom de *Staphylocoque*, et surtout par Rosenbach (6) en 1884. Il a fait depuis l'objet de bien des travaux.

C'est certainement l'espèce la plus fréquente dans le pus.

(1) Garré, Zur Aetiologie acut. eitriger Entzundungen (*Fortschr. der Med.*, 1885 nº 6). — Socin, Pathogénie de la suppuration (*Congrès franç. de chir.*, 1885).
(2) Verneuil, Du parasitisme microbique latent (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1886).
(3) Duclaux, Chimie biologique.
(4) Pasteur, *C. R. de l'Acad. des sc.*, t. LXXXIX, p. 1033.
(5) Ogston, *loc. cit.*, p. 335.
(6) Rosenbach, *loc. cit.*, p. 335.

Morphologie.

Caractères microscopiques.

Ce sont des coccus sphériques, mesurant de 0,6 μ à 1,2 μ de diamètre, isolés, en diplocoques, disposés par quatre ou rarement en courtes chaînes irrégulières, à trois ou quatre articles au plus toujours immo-

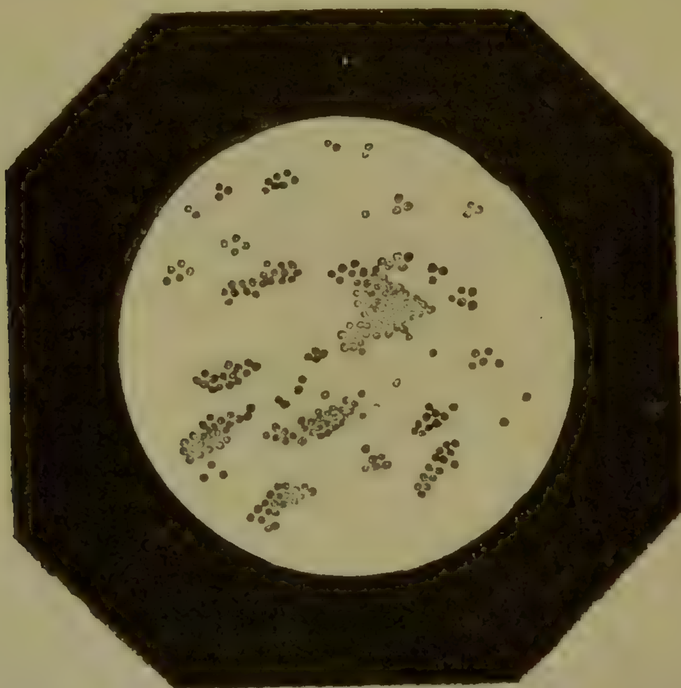


Fig. 155. — *Micrococcus pyogenes aureus*, d'une culture sur gélose.

biles; le plus souvent, ils se groupent en amas irréguliers, qui ont été comparés à des grappes de raisins à cause de l'accolement régulier des grains, d'où le nom de *Staphylococcus* proposé comme désignation générique (p. 334) et la dénomination très usitée de *Staphylocoque*. La figure 155 représente les dispositions qu'affectent habituellement les éléments groupés ensemble. Les amas sont souvent constitués par un nombre plus ou moins grand de coccus, comme l'indique la figure 156 qui reproduit l'apparence habituelle du pus à staphylocoques. Certains éléments sont contenus dans l'intérieur des globules du pus.

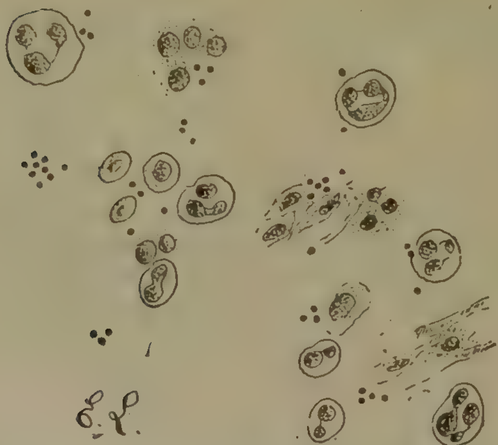


Fig. 156. — *Micrococcus pyogenes aureus*. Pus de panaris.

Coloration.

Le *Staphylocoque doré* se colore parfaitement avec les couleurs d'aniline et *ne se décolore pas* par la méthode de Gram.

Cultures.

Les cultures s'obtiennent facilement sur les milieux habituels.

Culture sur bouillon. — Ensemencée dans du bouillon, cette espèce le trouble très rapidement à 30°; il se forme au fond du ballon un dépôt peu abondant, d'abord blanc, puis jaunâtre. Le liquide reste toujours trouble.

Les cultures sur milieux solides sont autrement caractéristiques.



Fig. 157. — *Micrococcus pyogenes aureus.*

Cultures sur plaques : *1*, colonie de 48 heures; *2*, colonie de 5 jours.

Culture sur gélatine. — Le *Micrococcus pyogenes aureus* liquéfie rapidement la gélatine.

1° *Culture sur plaques.* — En culture sur plaques, il donne, au bout de quarante-huit heures à une température de 18-20°, de petites colonies rondes, grisâtres, qui apparaissent, à un faible grossissement, comme de petits disques d'un brun jaune clair à la lumière transmise et d'un beau jaune d'or brillant sur fond noir; le contenu en est granuleux et les bords très nets (fig. 157, *1*). La colonie s'étend peu à peu et, après quatre ou cinq jours, elle est formée d'une partie centrale foncée, opaque, qui représente la colonie primitive, et d'une zone annulaire formée de gélatine liquéfiée trouble (fig. 157, *2*). La liquéfaction s'étend et produit bientôt dans la gélatine un large creux contenant un liquide trouble, parfois légèrement jaunâtre. Les cultures sur plaques développent dès le second jour une odeur pénétrante rappelant celle du lait aigri.

2° *Culture en piqûre.* — En piqûre dans un tube de gélatine, le développement est plus rapide encore. Après vingt-quatre heures à 20°, une masse granuleuse jaunâtre remplit le canal de la piqûre dans sa plus grande longueur; on n'observe presque rien à la surface. En quarante-huit heures, il s'est formé une cupule de liquéfaction très nette, pleine d'un liquide blanchâtre trouble; les petites colonies qui se sont formées dans le sillon de la piqûre ne progressent guère. Du troisième au cinquième jour, la cupule de liquéfaction grandit et atteint les bords du tube (fig. 158), le liquide est laiteux, d'un blanc jaune. Du sixième au septième jour, un centimètre environ de la gelée est liquéfié. La liquéfaction ne marche plus que très lentement et s'arrête souvent à une bonne distance du fond de la masse de gelée, probablement à cause du manque d'oxygène. La culture a l'aspect représenté figure 159. A la partie supérieure, se trouve une couche liquide, très trouble, légèrement visqueuse, que peut surmonter parfois une pellicule irrégulière blanche ou jaunâtre, très visqueuse, s'étirant en longs fils lorsqu'on la touche avec l'aiguille de platine. Sur la



Fig. 158. — Cultures de *Micrococcus pyogenes aureus*, sur gélatine, en piqûre profonde.

gelée restée solide, se trouve un dépôt jaune-orange épais. Dans le reste du canal, on voit, comme au début, de petites colonies grisâtres et quelquefois de petits amas mûriformes de couleur jaune d'or. La liquéfaction peut cependant tarder à se produire.

Si l'on se borne à toucher simplement la surface de la gélatine avec l'aiguille chargée de la substance à ensemencer, il se produit une forme de culture assez spéciale, représentée par la figure 160. On observe, au bout de quelques jours, un sac de liquéfaction toujours irrégulier et présentant un ou deux étranglements peu prononcés qui le rendent asymétrique. La gélatine liquéfiée est trouble, il existe à la pointe du sac une petite masse floconneuse d'un blanc jaunâtre.

Culture sur gélose. — Sur gélose en strie, il se forme d'abord le long de la ligne d'inoculation de petites colonies blanches qui confluent bientôt et forment une bande mince et lisse, se colorant en jaune-orange rappelant assez bien un large trait de couleur à l'huile de cette nuance.

La culture continue à croître pendant longtemps. On obtient au bout de quelques semaines une épaisse culture d'apparence grumeleuse, d'un jaune orangé brillant, dont les bords ondulés peuvent être blanchâtres (fig. 161). En vieillissant, la partie centrale devient mamelonnée ou est partagée par des sillons longitudinaux. L'épaisseur, du reste, varie beaucoup suivant la semence employée.



Fig. 159. — Cultures de *Micrococcus pyogenes aureus*, sur gélatine, en piqûre profonde.



Fig. 160. — *Micrococcus pyogenes aureus.* Culture sur gélatine après simple piqûre superficielle.



Fig. 161. — Culture de *Micrococcus pyogenes aureus* sur gélose.

Culture sur pomme de terre. — Sur pomme de terre, cette Bactérie donne une couche épaisse, jaune d'or ou jaune-orange.

Culture dans le lait. — Dans le lait, ce microbe produit de l'acide lactique qui coagule bientôt ce liquide.

Culture sur sérum coagulé. — Il donne une culture assez épaisse, blanche au début, se colorant peu à peu en jaune orangé.

Culture sur artichaut. — Les cultures sont peu abondantes; elles sont formées de petites colonies sèches, bien isolées, jaune ocracé; le milieu ne verdit pas.

Propriétés biologiques.

Vitalité.

C'est un anaérobie facultatif qui semble avoir son optimum de température vers 37-38° ; il cesse de croître vers 44°. Dans les cultures, il est tué par une température de 56° en dix minutes (Sterberg), et plus rapidement à 80° ; protégé par de la matière albuminoïde, il résiste même quelques minutes à 100 degrés.

L'action des antiseptiques sur ce microbe paraît être assez variable (1). Il serait tué en deux minutes par le sublimé à 1 p. 1000. La lumière solaire directe diminue rapidement sa virulence.

Les cultures conservent très longtemps leur vitalité; elles peuvent encore fertiliser de nouveaux milieux après plus d'un an d'existence; ces vieilles cultures, ensemencées à nouveau sur gélatine, la liquéfient beaucoup plus lentement, souvent seulement après un long temps, mais donnent cependant des ensemencements fertiles.

Virulence.

Elle est d'habitude bien marquée chez un microbe obtenu récemment des lésions de l'homme ou d'animaux; parfois cependant elle est faible. En culture dans les milieux habituels, elle se conserve en général assez longtemps; parfois elle s'atténue assez vite. D'après Budjwid (2) et autres (3), la présence de glucose dans les milieux exalterait la virulence du microbe.

Produits formés dans les cultures.

Odeur.

Toutes les cultures développent une odeur aigre spéciale qui se perçoit au bout de très peu de temps. Dans les cultures jeunes, l'odeur est celle de la colle de farine fermentée; dans les vieilles, c'est celle du lait aigri.

Matière colorante.

La matière colorante jaune orangée ne se produit qu'à l'air; sous une couche d'huile, la culture progresse lentement, mais reste blanche. Après plusieurs générations, la coloration se fait moins vite et plus difficilement; souvent même le centre seul de la culture se colore, la

(1) Tarnier et Vignal, Recherches expérimentales sur l'action de quelques antiseptiques sur le Streptocoque et le Staphylocoque pyogènes (*Arch. de méd. expér.*, II, 1890, p. 469).

(2) Budjwid, Traubenzucker als Ursache der Eiterung neben Staphylococcus aureus (*Centralbl. für Bakt.*, IV, 1888, p. 577).

(3) Nicolas, Influence de la glucose sur le pouvoir pyogène et la virulence générale du *Staphylococcus pyogenes aureus* (*Arch. de méd. expér.*, 1896).

périphérie reste blanche. Cette matière colorante donne bien nettement, à l'état sec, la réaction des lipochromes avec l'acide nitrique (p. 127).

Autres produits.

Il produit une notable quantité d'acides aux dépens des matières sucrées (1). En présence de lactose, il forme principalement de l'acide lactique et parfois de l'acide sébacique; la dextrose donne de l'acide lactique, de l'acide acétique et de l'acide valérianique. Avec la glycérine, on trouve de l'acide lactique, des acides isobutyrique, valérianique et propionique. Il sécrète des produits diastasiques comme le montrent la liquéfaction de la gélatine et la peptonisation du blanc d'œuf.

Il donne rapidement une notable proportion d'hydrogène sulfuré. Dans les bouillons renfermant 1 p. 100 d'azotates alcalins, il forme des nitrites.

D'après Kitasato, il ne ferait pas d'indol; d'autres observateurs disent qu'on en rencontre un peu dans ses cultures.

Les cultures renferment des produits toxiques. En exposant des bouillons de culture âgés de vingt à vingt-cinq jours à une température de 55° pendant vingt-quatre heures, tous les microbes sont tués, comme on peut s'en assurer par l'ensemencement; le liquide est modérément toxique pour le chien et le lapin. La filtration sur bougie donne le même résultat, mais la toxicité du liquide est encore moindre, parce que la bougie retient une forte proportion de substance active.

Brieger (2) a isolé, de culture sur bouillie de viande de cette espèce, de petites quantités d'une base organique, qui ne lui a montré aucun effet toxique. Le chlorhydrate de cette ptomaïne cristallise en aiguilles incolores non altérables à l'air.

Leber (3) a retiré de cultures une substance cristallisable, soluble dans l'alcool, déterminant rapidement, lorsqu'on l'injecte en faible quantité dans les tissus, une inflammation suppurative aboutissant à la nécrose. Il l'a nommée *phlogosine*. Elle est bien distincte de celle obtenue par Brieger; elle ne contient pas d'azote. Nous avons vu que Christmas (4) avait rencontré dans ses cultures une substance soluble dans l'eau, précipitable par l'alcool, se détruisant à 120°, ressemblant aux diastases; elle détermine une légère suppuration, inoculée dans la chambre antérieure de l'œil du lapin (p. 336).

D'après Rodet et Courmont (5), les bouillons de culture âgés d'une vingtaine de jours renferment plusieurs substances toxiques de propriétés différentes. Les unes sont précipitables par l'alcool et appartiennent probablement au groupe des toxalbumines : les autres, solubles dans l'alcool, représentent sans doute les produits obtenus par Brieger et Leber. Ce sont surtout les premières qui sont toxiques; cependant, d'après Courmont (6), l'alcool précipite une substance à action *vaccinante*

(1) Achard et Gaillard, Contribution à l'étude biochimique des genres Tétragène et Staphylocoque (*Arch. de méd. expér.*, XI, 1899, p. 96).

(2) Brieger, Microbes, ptomaïnes et maladies, traduct. Paris, 1888.

(3) Leber, Ueber die Enstehung des Entzündung (*Fortschr. der Med.*, 1888, n° 2).

(4) Christmas, Recherches sur la suppuration (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888).

(5) Rodet et Courmont, Étude expérimentale des substances solubles toxiques élaborées par le Staphylocoque pyogène (*Revue de méd.*, XIII, 1893, p. 84).

(6) Courmont, Étude sur les substances solubles prédisposant à l'action pathogène de leurs microbes producteurs (*Revue de méd.*, XI, 1891, p. 842).

manifeste. Ces produits toxiques sont remarquables par leurs effets respiratoires et tétaniques. Les substances solubles dans l'alcool, à effet anesthésique marqué, bien que très toxiques également, seraient plutôt des *antagonistes* des précédentes ; elles produisent, chez le chien, l'abaissement de la température et la mort par arrêt du cœur. Nous avons déjà vu que Courmont avait reconnu, dans les produits solubles dans l'alcool, la présence d'une substance *prédisposante* à l'égard de l'infection par ce même microbe (p. 99).

Les expériences de Mosny et Marcano (1) démontrent que l'inoculation intraveineuse au lapin de bouillons de culture stérilisés par filtration, à la dose de 10 centimètres cubes, tue l'animal en quelques secondes ; à dose faible, 1 ou 2 centimètres cubes, il y a survie, assez longue au moins. Ces animaux qui survivent ne sont jamais vaccinés ; bien au contraire, ils semblent plutôt prédisposés à l'infection par le Staphylocoque virulent. La plupart du temps, ils maigrissent, deviennent cachectiques et meurent en cinq ou six semaines, en présentant à l'autopsie de nombreux petits abcès des parois intestinales et une péritonite purulente. Dans le pus, on ne rencontre que les microbes habituels de l'intestin ; la toxine a donc provoqué le passage des microbes du contenu intestinal à travers les parois.

Inoculation expérimentale.

Le *Staphylocoque pyogène doré* est pathogène pour la plupart des animaux ; c'est le lapin qui paraît être le plus réceptif et par conséquent l'animal de choix pour l'expérimentation. Le cobaye se comporte à peu près comme le lapin, mais est moins sensible que lui. Le chien, la souris, le rat ont été inoculés avec succès.

Les cultures sont virulentes et conservent d'ordinaire longtemps leur pouvoir infectieux ; d'autres fois, elles s'atténuent assez vite. Les inoculations faites sous la peau ne donnent la plupart du temps qu'une inflammation qui reste localisée. Il se forme, à l'endroit choisi, un abcès plus ou moins gros qui guérit facilement. Si même la quantité de matière introduite est faible, l'effet peut être presque inappréciable. Garré, on s'en souvient, n'a déterminé que des accidents locaux en oignant son bras d'une forte quantité de produit de cultures fraîches. Parfois cependant l'infection se généralise et la mort s'ensuit avec les symptômes typiques de la pyémie. L'injection intrapéritonéale détermine une péritonite purulente rapidement mortelle. En inoculation intraveineuse, le parasite se répand par la voie sanguine dans tout l'organisme et produit son action nécrobiotique dans des endroits divers, en se localisant surtout à certaines places de prédilection. C'est ainsi qu'il s'amasse souvent dans les reins, en produisant une véritable néphrite septique. La septicémie ainsi produite tue le lapin en un laps de temps qui varie entre vingt-quatre et quarante-huit heures. D'après Rodet (2), injecté dans le sang, il montre une véritable préférence pour les os, et

(1) Mosny et Marcano, Toxine du Staphylocoque pyogène (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CXIX, 1894, p. 962).

(2) Rodet, Études expérimentales sur l'ostéomyélite infectieuse (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCVIII, 1884, p. 569).

là, agit spécialement sur les parties de plus rapide accroissement; il y détermine, chez le lapin, des lésions d'ostéite juxta-épiphysaire comparables à celles de la maladie humaine. Ce même expérimentateur est parvenu à produire une sorte d'ostéomyélite en combinant avec l'inoculation intraveineuse une lésion traumatique des os. Wyssokowitsch (1), Ribbert (2), Bonome (3), ont produit chez les lapins des endocardites, en leur injectant dans les veines des bouillons de cultures ; les lésions siégeaient surtout au niveau des valvules, sur lesquelles s'observaient souvent des ulcérations ou des végétations très apparentes. Les localisations peuvent être nombreuses, l'état devient alors très grave.

Immunité et sérothérapie.

Rodet et Courmont (4) ont obtenu une immunité marquée par les produits vaccinants solubles dans l'alcool. Le sérum des animaux ainsi immunisés leur a paru atténuer la virulence du microbe. Viquerat (5) et Kosc (6) disent avoir obtenu un sérum préventif contre l'inoculation intraveineuse du Staphylocoque. Parascandolo (7) vaccine des animaux à l'aide de cultures très virulentes faites dans des bouillons sucrés; ces cultures sont stérilisées par addition de 5 p. 100 d'acide phénique et injectées à doses progressivement croissantes. Le sérum de ces animaux neutralise, *in vitro*, les toxines et les microbes et est préventif et curatif à l'égard des infections à Staphylocoques. Le même expérimentateur a cultivé ensemble plusieurs espèces pyogènes et obtenu un sérum efficace contre des associations qui se rencontrent souvent dans les infections. Les *sérums antistaphylococciques* obtenus sont encore trop faibles pour être utilement employés en thérapeutique (8).

Habitat et rôle étiologique.

On le trouve dans beaucoup de suppurations, en particulier dans le pus des furoncles, des anthrax, de l'ostéomyélite, de beaucoup de phlegmons, de l'empyème souvent.

Il est fréquent dans les abcès divers (77 fois sur 100, d'après Janowski). On le retrouve dans bien des cas d'otites, de conjonctivites, de paro-

(1) Wyssokowitsch, Ueber die Schicksale der in's Blut injectiren Microorganismen (*Zeitschr. für Hygiene*, I p., p. 3).

(2) Ribbert, Ueber experimentell erzeugte Endocarditis (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1886, p. 450).

(3) Bonome, Contribution à l'étude des Staphylocoques pyogènes (*Arch. ital. de biol.*, VIII, fasc. 1, p. 10).

(4) Courmont, Des propriétés bactéricides ou microbiophiles du sérum de lapins (*Arch. de phys.*, 1885).

(5) Viquerat, Das Staphylokokkenheilserum (*Zeitschr. für Hygiene*, XVIII, 1895).

(6) Kosc, Serum antistaphylococcicum (*Centralbl. für Bakt.*, 1e Abt., XIX, 1896, p. 648).

(7) Parascandolo, Expériences séro-thérapeutiques contre les infections par les microbes pyogènes et contre l'érysipèle (*Arch. de méd. expér.*, mai 1896, p. 320).

(8) Mircoli, Heilserum gegen Staphylococcus (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 69). — Bail, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 17 octobre 1898. — Petersen, Ueber Immunisierung und Serumtherapie bei der Staphylomycose. Thèse de Heidelberg, 1897.

tidites; dans le pus de certaines cystites et urétrites; dans le pus de certaines pleurésies purulentes (1).

Pénétrant dans le sang, il peut déterminer de l'infection purulente, de l'endocardite ulcéreuse, etc. D'après Rosenbach, il se trouverait surtout dans le pus de teinte jaunâtre. Garré (2) l'a signalé dans le sang d'un malade affecté d'ostéomyélite. Il a été rencontré dans le tartre dentaire et l'enduit lingual, par Vignal (3), où il est peut-être en rapport avec la présence de dents cariées, et existe très souvent sur la peau à l'état normal; on l'a souvent constaté sous les ongles.

Il se trouve fréquemment en association avec d'autres microbes pathogènes, avec le *Streptocoque pyogène*, avec le *Bacille de la morve*, avec le *Pneumocoque*, le *Bacille de l'influenza*, le *Bacille typhique*, le *Bacille de la pourriture d'hôpital*, le *Bacille de la tuberculose*, modifiant plus ou moins les processus déterminés habituellement par ces microbes.

Dans le milieu extérieur, il paraît être commun. Pasteur (4) l'a signalé depuis longtemps dans l'eau.

Ullmann, nous l'avons vu plus haut (p. 338), l'a trouvé très répandu dans la nature; les observations faites depuis ont confirmé sa grande fréquence dans les milieux naturels, sur la peau de l'homme et des animaux, dans l'air, les eaux, les poussières; d'après Achard et Phulpin, c'est le microbe qui envahit le plus rapidement le cadavre après la mort, devançant souvent les espèces de putréfaction. Denys (5) a signalé sa présence en abondance dans une viande ayant causé chez les consommateurs des symptômes d'intoxication.

On a rencontré ce même microbe dans le pus d'abcès de beaucoup de mammifères et de suppurations d'oiseaux. Lucet (6) l'a trouvé comme cause d'une épidémie d'ostéo-arthrite infectieuse chez de jeunes oies et a pu reproduire avec des cultures pures la même épidémie chez des oisons. Charrin le donne même comme la cause d'une maladie épidémique ayant sévi sur les goujons du Rhône, ce qui démontre que les animaux à sang froid ne sont même pas à l'abri de ses atteintes.

Il joue un rôle considérable en pathologie, et en pathologie humaine principalement. C'est l'agent le plus commun des suppurations, de la pyémie. Il vient compliquer un grand nombre de maladies infectieuses occasionnant des infections secondaires; en particulier l'association de ce microbe avec le *Bacille de Loeffler* dans la diphtérie est d'un pronostic grave.

En dermatologie, on doit lui attribuer une grande importance; il est des plus communs, associé souvent avec d'autres microbes saprophytes,

(1) G. Gross, Sur deux cas de pleurésie purulente à Staphylocoques dorés purs (*Gazette hebd. de méd. et de chir.*, 11 décembre 1898).

(2) Garré, *loc. cit.*

(3) Vignal, Recherches sur les microorganismes de la bouche (*Arch. de phys.*, 1886, n° 8, p. 326).

(4) Pasteur, Le microbe du furoncle et de l'ostéomyélite trouvé dans l'eau (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXIX, 1878, p. 1033).

(5) Denys, *Bull. de l'Acad. roy. de méd. de Belgique*, 1894, p. 605.

(6) Lucet, De l'ostéo-arthrite aiguë infectieuse des jeunes oies (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892).

quelquefois avec des pathogènes, dans bien des lésions cutanées, impétigo, acné, dermatites diverses.

Recherche et diagnostic.

On le trouve facilement dans le pus, dans le sang, sur les préparations traitées par la méthode de Gram; il garde la coloration. Une certitude plus grande est donnée par les ensemencements qui donnent des cultures d'aspect suffisamment caractéristique. L'inoculation aux animaux indique le degré de virulence.

La réaction d'agglutination peut servir. Silvestrini (1) aurait observé dans deux cas de staphylococcie que le sérum sanguin des malades agglutinait nettement les cultures de Staphylocoque doré.

Lucet (2) a décrit sous le nom de *Staphylococcus pyogenes bovis* un microcoque pyogène qui lui paraît spécial aux suppurations de l'espèce bovine. Il ne liquéfie pas la gélatine, donne sur la gélose une très maigre culture grisâtre, un trouble passager dans le bouillon et une mince couche crayeuse mate sur pomme de terre. Il ne produit rien en inoculation chez le cobaye et le lapin. De Jong (3) en fait aussi un type distinct du *Staphylocoque doré*.

MICROCOCCUS PYOGENES ALBUS Rosenbach.

(*Staphylococcus pyogenes albus*; *Staphylocoque blanc*.)

Il accompagne très fréquemment dans le pus le *Micrococcus pyogenes aureus* dont il possède toutes les apparences, de telle sorte qu'il est absolument impossible de les distinguer dans des préparations microscopiques de ce produit pathologique. Rosenbach dit qu'il se rencontre surtout dans les pus de couleur blanchâtre. D'après Passet, il serait plus fréquent que le précédent. Lannelongue (4) l'a isolé seul du pus de certaines ostéomyélites. Vignal l'a signalé dans le tartre dentaire avec le premier; il a été aussi rencontré sur la peau normale. Beaucoup le considèrent comme une simple variété du précédent; Rodet et Courmont disent avoir vu le *Staphylocoque doré* se transformer en *Staphylocoque blanc*, en le cultivant à une haute température. Les expériences d'Achard et Gaillard (5) montrent bien qu'il existe entre le *Staphylocoque doré*, le *Staphylocoque blanc* et le *Staphylocoque citrin* des différences physiologiques notables.

Cultures. — Les colonies des cultures sur plaques ont la même forme que celles du *Micrococcus pyogenes aureus*; la gélatine liquéfiée reste toujours laiteuse, blanchâtre et ne se teint jamais de jaune.

(1) Silvestrini, Potere agglutinante del sangue sul culture in brodo di stafilococco in due casi di infezzione stafilococcica (*Settimana med.*, 2 avril 1878).

(2) Lucet, Recherches bactériologiques sur la suppuration chez les animaux de l'espèce bovine (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 325).

(3) De Jong, Ueber Staphylococcus pyogenes bovis (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 13 et 64).

(4) Lannelongue et Achard, Les microbes de l'ostéomyélite aiguë dite infectieuse (*Sem. méd.*, 1890, p. 84). — Salducci, De l'ostéomyélite chronique d'emblée due au Staphylocoque blanc à l'état de pureté. Thèse de Montpellier, 1898.

(5) Achard et Gaillard, Contribution à l'étude biochimique des genres Tétragène et Staphylocoque (*Arch. de méd. expér.*, XI, 1899, p. 96).

En piqûre dans un tube de gélatine, il se développe exactement comme l'autre, mais la liquéfaction est plus lente à se produire. C'est surtout avec lui que s'observe pendant longtemps la forme de culture représentée figure 162, déjà citée pour l'espèce précédente, obtenue en touchant simplement la surface de gélatine du tube avec le fil d'inoculation. La gélatine liquéfiée est blanche, laiteuse; elle laisse déposer un sédiment blanc, épais. On ne remarque pas à sa surface les flocons denses qui s'observent chez le premier.

Sur gélose, à 30-35°, il se développe moins abondamment que son congénère. Il forme d'abord des taches blanches qui confluent en une large couche blanc mat, grisâtre, souvent un peu irisée, ne faisant jamais une forte saillie. Les cultures présentent aussi une grande viscosité.

Sur pomme de terre, il donne une membrane très mince, sèche.

Il résiste pendant un temps très long à la privation d'air.



Fig. 162. — Culture sur gélatine après simple piqûre superficielle.

Des recherches précises sur son action pathogène font encore défaut. Ribbert, dans son mémoire précité, a expérimenté à l'aide de cultures mélangées des deux premières espèces, en paraissant admettre leur identité d'action. C'est aussi l'opinion à laquelle se rattachent, sans preuves directes toutefois, la plupart des auteurs (1) et particulièrement Rodet et Courmont dans leurs mémoires précités. D'ailleurs, en cultivant du *Staphylocoque doré* sur des milieux fortement peptonisés et très peu peptonisés, on obtient souvent dans le premier cas des cultures caractéristiques bien jaunes et dans le second des cultures presque complètement blanches.

MICROCOCCUS PYOGENES CITREUS Passet.

(*Staphylococcus pyogenes citreus.*)

Passet (2) le donne comme assez fréquent dans le pus avec les précédents. Bonome (3) l'a trouvé seul, avec le Bacille de la tuberculose, dans un cas de tuberculose de la plèvre.

Les caractères des cultures sont ceux du *Micrococcus pyogenes aureus*, sauf la coloration qui est d'un jaune-citron foncé. Pour beaucoup, il ne serait qu'une simple variété de ce dernier.

MICROCOCCUS PYOGENES.

(*Streptococcus pyogenes*; *Streptocoque pyogène*; *Streptocoque de l'érysipèle.*)

Atlas de microbiologie, Pl. ix.

Il est commun dans le pus, où sa présence a été signalée par Ogston

(1) Voy. Bonome, Contributions à l'étude des Staphylocoques pyogènes (*Arch. ital. de biol.*, t. VIII, p. 10).

(2) Passet, Untersuchungen über die Aetiologie der eitrigen Phlegmone des Menschen. Berlin, 1883.

(3) Bonome, *loc. cit.*

en 1881 (1), puis Passet (2) et Rosenbach (3). Pasteur et Doléris (4) l'avaient observé dès 1880 dans le sang de femmes atteintes de septicémie puerpérale. C'est encore certainement le microbe signalé par Nepveu (5) dans la sérosité du sang des plaques d'érysipèle que cet auteur décrit comme proche du *Bacterium punctum* d'Ehrenberg. Fehleisen (6) l'a obtenu en culture pure de la peau érysipélateuse en 1883 ; nous verrons plus loin que son *Streptocoque de l'érysipèle* (*Streptococcus erysipelatus*) peut être identifié comme espèce avec le *Micrococcus pyogenes*.

Cette espèce présente une assez large variabilité de caractères (7); certains auteurs même ont pris ces différences comme base pour établir des types spécifiques distincts. Lingelsheim (8), par exemple, distingue un *Streptococcus longus* à chaînettes longues, à virulence souvent très marquée, et un *Streptococcus brevis* à chaînettes courtes et à virulence moindre ; Behring (9) se sert des différences de culture dans le bouillon ; Marot (10), des différences d'aspect de cultures sur pomme de terre. Il semble bien que l'on ait dans tous ces cas affaire au même type spécifique, dont plusieurs caractères varient facilement, dans de certaines limites, sous des influences diverses, au premier rang desquelles doivent assurément se placer la nature et les conditions du milieu où vit le microbe (11).

Cette question semble devoir se résoudre par la distinction de nombreuses races, modalités plus ou moins différenciées d'un même type spécifique. De telle sorte qu'une description classique doit s'adresser plutôt à un *Streptocoque* quelque peu théorique ou schématique. En tout cas, il n'y a plus lieu maintenant de décrire un *Streptocoque du pus* et un *Streptocoque de l'érysipèle*; il n'y a là que question de virulence variable, de résistance du sujet, état de la peau, etc. Il peut même y avoir plus ; on peut citer une série continue de types entre le *Streptocoque pyogène* et le *Pneumocoque*.

Morphologie.

Caractères microscopiques.

Dans le sang ou dans le pus, on trouve ces Microcoques rarement isolés ou unis à deux, d'habitude en chaînettes assez courtes, de 5 à

(1) Ogston, *loc. cit.*, p. 338.
(2) Passet, *loc. cit.*, p. 338.
(3) Rosenbach, *loc. cit.*, p. 338.
(4) Doléris, La fièvre puerpérale. Thèse de Paris, 1880.
(5) Nepveu, Sur la présence des Bactéries dans le sang des érysipélateux (*Soc. de Biol.*, 1870, p. 164).
(6) Fehleisen, Die Aetiologie des Erysipels. Berlin, 1833.
(7) Zenoni, Ueber die Frage der Homologie der Streptokokken (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 10).
(8) Lingelsheim, Eigenschaften verschiedener Streptokokken (*Zeitschr. für Hygiene*, X, 1892, p. 331).
(9) Behring, Untersuchungergebnisse betreffend den Streptococcus longus (*Centralbl. für Bakt.*, XII, 1892, p. 192).
(10) Marot, Un streptocoque à culture apparente sur pomme de terre (*Arch. de méd. expér.*, 1893, p. 548).
(11) Widal et Besançon, Étude des diverses variétés de Streptocoques (*Arch. de méd. expér.*, mai 1896).

10 éléments en moyenne (fig. 163). Les coccus sont souvent arrondis ; ceux des cultures jeunes, en pleine végétation, paraissent fréquemment ovalaires, prêts à se diviser ; parfois on en observe à grand axe vertical, comme le représente la figure 169. Dans les cultures, la grandeur des chaînettes augmente ; celles qui se développent dans des bouillons bien nutritifs, par exemple, peuvent être formées d'un nombre considérable de coccus, souvent plusieurs centaines. Les coccus trouvés dans le pus mesurent 0,8 μ à 1 μ en moyenne, ceux de l'érysipèle sont plus petits. Ceux des cultures varient dans de plus larges limites ; ils sont très petits dans les vieilles cultures ; dans les cultures en plein développement, au contraire, certains éléments des grandes

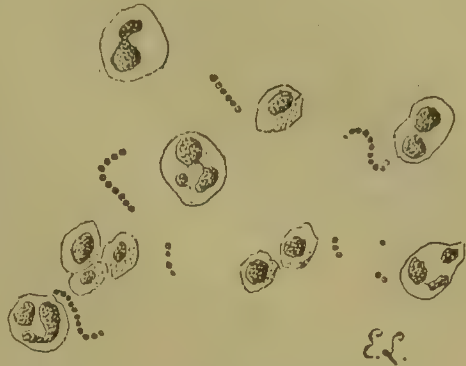


Fig. 163. — Pus d'un phlegmon sus-aponévrotique de la cuisse avec *Streptocoques pyogènes*.



Culture dans le bouillon. Culture dans le bouillon-sérum. Culture sur gélose.

Fig. 164. — Formes d'un même Streptocoque cultivé sur milieux différents (d'après Zenoni).

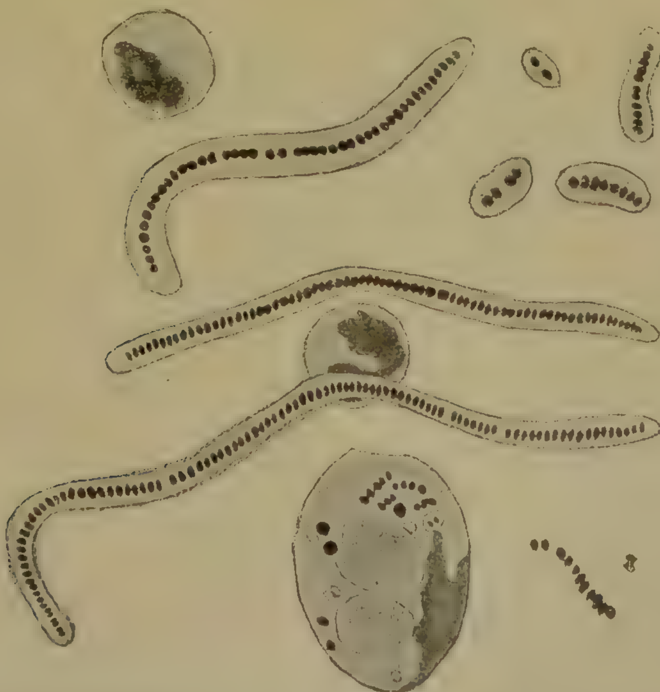


Fig. 165. — Streptocoques pyogènes encapsulés du liquide péritonéal de cobaye inoculé (d'après Bordet).

chaînes atteignent et dépassent même le double du diamètre des voisins, ce qui les a fait considérer, sans autre raison du reste, comme des arthrospores par certains auteurs.

Un même Streptocoque peut présenter des formes très différentes suivant le milieu de culture où il vit (fig. 164).

La taille des articles est souvent très irrégulière. Certains grains sont susceptibles d'acquérir un volume considérable; d'autres sont très fins et ceci souvent dans la même chaînette. La figure 166 montre bien l'extrême diversité des aspects que l'on peut observer.



Fig. 166. — Formes anormales du Streptocoque pyogène.

Parfois, les éléments ont une auréole bien visible; quelquefois même une capsule très nette (fig. 165), si marquée qu'on peut parfois éprouver un réel embarras à distinguer un *Streptocoque pyogène* avéré d'un *Pneumocoque*.

L'immobilité est un signe de valeur, mais pas absolu. Il est des chaînettes qui montrent des contractions et des étirements si nets qu'on ne peut leur contester une certaine mobilité.



Fig. 167. — Formes à éléments très petits.



Fig. 168. — Formes où les éléments sont disposés en diplocoques.



Fig. 169. — Formes à éléments allongés verticalement.



Fig. 170. — Formes agglomérées (*Streptococcus conglomeratus* de Kurth).

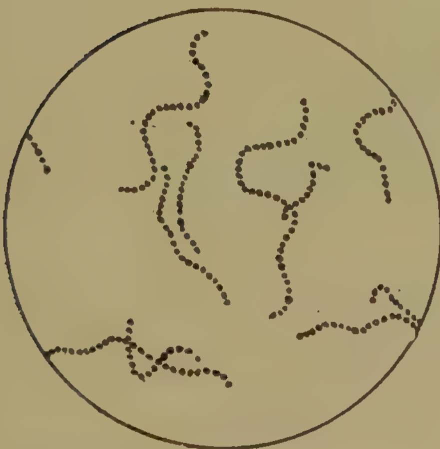


Fig. 171. — Formes longues.

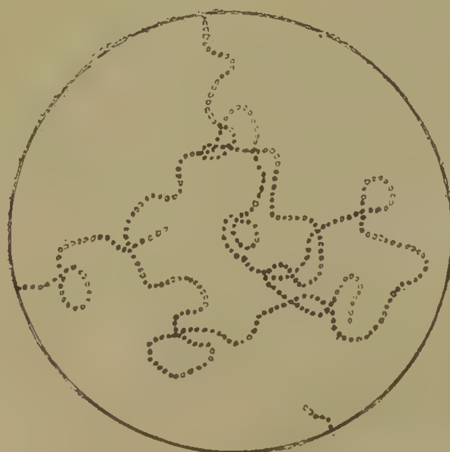


Fig. 172. — Formes très longues.

Fig. 167 à 172. — Formes diverses du Streptocoque pyogène.

Les figures 167 à 172 montrent les principaux aspects que l'on peut observer dans les préparations.

Coloration.

Le *Streptocoque pyogène* se colore très facilement aux diverses couleurs d'aniline. Certains éléments peuvent ne pas prendre la couleur ou se colorer très difficilement. Le plus souvent, traité par la méthode de Gram, *il reste coloré.* Étienne (1) a obtenu d'une angine à fausses membranes un Streptocoque se décolorant par la méthode de Gram. Lemoine (2) a observé la même particularité, pour certaines cultures seulement d'un Streptocoque isolé de l'érysipèle, d'autres cultures provenant de la même semence présentant la réaction la plus habituelle que l'on peut considérer comme normale, gardant la coloration par la méthode en question. Quelquefois, on rencontre des *Streptocoques* qui ne gardent la coloration qu'après un passage sur gélose.

Cultures.

Ce microbe est un anaérobie facultatif. Il paraît conserver plus longtemps ses propriétés, entre autres sa virulence, lorsqu'il est à l'abri de l'oxygène. Il se cultive lentement à une température de 15° à 20°, plus vite à l'étuve; son optimum se trouve vers 37°. Il pousse encore vers 45°, mais plus du tout à 47°. Il se développe mal dans les milieux un peu acides; au mieux dans les milieux additionnés de sérum ou de sang.

Cultures dans le bouillon. — Le bouillon neutre ou légèrement alcalin est un très bon milieu pour le *Streptocoque pyogène.* On remarque ici des différences assez marquées suivant la provenance du microbe ; certains *Streptocoques* se cultivent sans troubler le bouillon, d'autres au contraire le troublent uniformément. Behring (3), Lingelsheim (4) et d'autres (5) ont voulu faire de cette différence de culture un caractère spécifique; il ne semble pas que sa constance soit suffisamment établie.

Le *Streptocoque pyogène* du pus donne des cultures du premier type. Vers 30°, dès le troisième jour, le microbe forme sur les parois du vase un piqueté blanchâtre, léger d'abord, puis de plus en plus dense, adhérent au vase. Après huit jours, le piqueté s'arrête et il s'est formé au fond un sédiment grisâtre, floconneux, qui se répand dans le liquide après agitation; par le repos, le liquide redevient entièrement clair. Les flocons sont formés de très longues chaînettes intriquées. Le Streptocoque que Kurth (6) a obtenu du sang scarlatineux se comporte de même.

(1) Étienne, Note sur les Streptocoques décolorables par la méthode de Gram (*Arch. de méd. expér.*, 1895).

(2) Lemoine, Variabilité dans la forme et les caractères de culture du Streptocoque (*Arch. de méd. expér.*, 1896).

(3) Behring, *loc. cit.*

(4) Lingelsheim, *loc. cit.*

(5) Pasquale, Vergleichende Untersuchungen über Streptokokken (*Beitr. zur Anat. von Ziegler*, XII, p. 443).

(6) Kurth, Unterscheidung der Streptokokken (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, VII, 1891, p. 389).

Dans les angines (1), les broncho-pneumonies, les pleurésies purulentes, l'érysipèle parfois, on isole un *Streptocoque pyogène* troublant plus ou moins le bouillon, parfois très rapidement, au bout de douze heures. Le liquide peut s'éclaircir en deux ou trois jours, ou rester plus longtemps trouble. On peut même observer une forme de culture intermédiaire ; le liquide n'est pas réellement trouble, mais prend, par agitation surtout, un aspect ondoyant, comme le vin malade de la graisse, aspect dû à la présence de très longues chaînettes restant en suspension.

Dans les deux cas, le bouillon devient assez rapidement acide ; le microbe forme de l'acide lactique, probablement aux dépens des hydrates de carbone. Cette acidité nuit à la conservation de la vitalité du microbe; aussi les cultures périssent-elles assez vite. On peut les conserver plus longtemps vivantes en usant de bouillon additionné de craie en poudre. Pour les entretenir, il faut les réensemencer avant que l'acidité apparaisse.

Cultures sur plaques de gélatine. — En trente-six à quarante-huit heures, on obtient de petites colonies punctiformes, arrondies, granuleuses, qui, arrivées à la surface, s'étalent en petits disques transparents, un peu bombés, pouvant atteindre un demi-millimètre de diamètre. A un faible grossissement, elles apparaissent au début comme de petits disques légèrement jaunâtres à contours nets, à surface granuleuse. Les colonies plus âgées prennent une teinte un peu brunâtre et celles qui se trouvent à la surface laissent échapper de leurs bords de longs filaments serpentant en tous sens, constitués par des chaînes de nombreux coccus. La gélatine *n'est jamais liquéfiée.*

Cultures sur gélatine. — *En piqûre*, la culture est minime. A 20°, les colonies n'apparaissent guère avant quarante-huit heures dans l'épaisseur de la gelée. Ce sont de petites sphères blanches, opaques, restant isolées les unes des autres. A la surface, il se forme un petit disque blanc, peu proéminent, qui ne dépasse guère le volume d'une petite tête d'épingle.

En strie, on observe en trente-six heures une colonie muqueuse, blanche, un peu transparente, surtout aux bords. Ces colonies peuvent reproduire grossièrement l'aspect de certaines feuilles, frondes de fougère ou feuilles d'acacia par exemple. C'est même là le caractère qui, d'après Rosenbach, permettait de différencier en cultures le *Streptocoque de l'érysipèle* du *Streptocoque pyogène* ; le premier donnait une culture sur gélatine ressemblant à une feuille de fougère, le second une culture rappelant la feuille d'acacia. Ce sont là des caractères bien difficiles à apprécier nettement, d'autant plus qu'ils sont loin de présenter une constance absolue et que, dans une série assez nombreuse de cultures provenant d'une même semence, on trouvera souvent tous les passages de l'un à l'autre type.

L'accroissement de toutes ces cultures sur gélatine se termine vite, au bout de quatre à cinq jours. Souvent après quatre à cinq semaines, elles sont mortes.

(1) Barbier, Sur un Streptocoque trouvé dans les angines à fausses membranes (*Arch. de méd. expér.*, 1892, p. 827). — Veillon, Recherches sur l'étiologie et la pathogénie des angines aiguës non diphtériques. Thèse de Paris, 1894.

Cultures sur gélose. — *En strie*, à 30-35°, on obtient de petits mamelons blancs de 1 à 2 millimètres de diamètre, se développant sur toute la surface du tube, pouvant même devenir confluents et former une bande d'un blanc grisâtre qui rappelle parfois l'aspect d'une feuille composée comme la culture sur gélatine. La vitalité s'éteint vite ; souvent dès la quatrième culture il n'est plus possible d'obtenir une végétation.

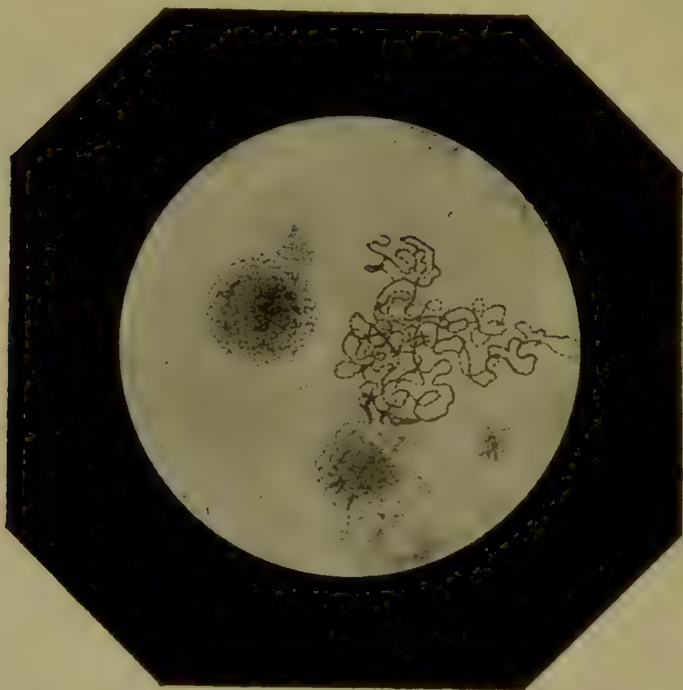


Fig. 173. — Culture sur plaques de gélose, en frottis, 80/1.

Sur plaques de gélose, en frottis, les cultures apparaissent déjà après huit ou dix heures à 37°, comme de petites gouttes grisâtres, hyalines. A un faible grossissement (fig. 173), ces colonies sont arrondies, d'un gris jaunâtre, à centre plus sombre, comme formées d'un pelotonnement de fils très légers. Un peu plus tard, après treize ou quatorze heures, on voit des prolongements quitter les bords pour se diriger sur la surface du milieu. Plus les colonies avancent en âge, plus les prolongements augmentent ; après quarante-huit heures, une grande partie de la surface de la gelée est recouverte de ces prolongements sinueux, s'emmêlant souvent les uns avec les autres, constitués par de très longues chaînettes de Streptocoques. C'est un aspect très caractéristique.

Cultures sur sérum. — Dans le *sérum liquide*, les cultures ont l'aspect de celles dans le bouillon ; elles y gardent cependant plus longtemps leur vitalité et en particulier leur virulence. Sur *sérum coagulé*, en *strie*, la culture rappelle celle sur gélose ; les colonies sont plus nettes, ont moins de tendance à confluer et ressemblent, au début surtout, à de petits grains de semoule accolés à la gelée. Elles apparaissent souvent à 37° avant la dixième heure.

Cultures sur pomme de terre. — Le *Streptocoque pyogène* croît sur ce milieu sans donner de culture apparente à l'œil nu. Mais si, au bout

de quelques jours, on racle la surface ensemencée, on observe de nombreuses chaînettes formées d'un petit nombre d'éléments. Marot (1) signale un Streptocoque de la bouche qui donne sur pomme de terre une culture formée après vingt-quatre heures de petits grains arrondis, séparés, presque transparents, devenant d'un blanc laiteux le second jour; j'ai obtenu la même forme de culture avec un Streptocoque isolé plusieurs fois des eaux.

Cultures dans le lait. — Ce microbe produit souvent, au bout de quelques jours, la coagulation de la caséine. Cette coagulation est d'ordinaire localisée en un point, à la partie la plus déclive de la culture, puis envahit ensuite toute la masse; la caséine se rétracte et abandonne un liquide tout à fait limpide. Cependant, cette modification est variable. Avec un Streptocoque de même provenance, la coagulation est tantôt rapide, tantôt très lente; elle peut même manquer complètement. Certaines variétés ne la déterminent jamais. La coagulation paraît dépendre de la formation d'acide lactique.

Propriétés biologiques.

Vitalité. — Le *Streptocoque pyogène* est une espèce très sensible. Elle conserve mal sa vitalité en présence de l'air. Les cultures sur les milieux les plus favorables peuvent ne plus rien donner après huit jours; pour en conserver, il faut réensemencer souvent, même chaque jour. On a vu (p. 356) que, même avec un réensemencement journalier, la vitalité s'éteint vite sur gélose.

Bien que pouvant encore végéter à d'assez hautes températures (p. 354), il est très sensible aux élévations de température. Dans les cultures, il est tué à 52° en dix minutes (Sternberg), instantanément à 100°; il résiste également très peu aux antiseptiques, même faibles. Lorsqu'il est protégé par un vernis albumineux, pus desséché, sang desséché, il se montre un peu plus résistant.

L'action des antiseptiques est variable, à cause de la grande variabilité des types étudiés.

Virulence. — C'est la propriété qui nous intéresse le plus; c'est par contre aussi celle qui est sujette aux plus grandes variations. Dans la plupart des cultures, en particulier, la virulence s'atténue et même peut disparaître très vite, à tel point qu'un Streptocoque très virulent dans des produits naturels, sang ou pus par exemple, ne pourra se montrer que peu actif même en première culture. Cette diminution de la virulence paraît être sous l'influence directe des conditions extérieures. L'oxygène joue un grand rôle; les cultures conservées à l'abri de l'air, en pipettes scellées, gardent plus longtemps leur activité. La chaleur agit aussi; on arrive parfois à conserver la virulence d'une culture en la maintenant à 0°, dans la glace. Cette perte de la virulence est un obstacle des plus sérieux pour l'expérimentation. D'après Marmorek (2), on peut l'éviter en se servant comme milieu de

(1) Marot, Un Streptocoque à culture apparente sur pomme de terre (*Arch. de méd. expér.*, 1893, p. 548).

(2) Marmorek, Le Streptocoque et le sérum antistreptococcique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1895, p. 593).

culture du sérum humain rendu nutritif; on prend deux parties de sérum humain et une partie de bouillon de bœuf peptonisé à 1 p. 100. On peut aussi employer le liquide d'ascite, moins favorable cependant que le sérum; la proportion du mélange est une partie de liquide d'ascite et deux parties de bouillon. Des cultures successives dans le liquide le plus favorable conservent la virulence, mais ne l'exaltent pas. L'exaltation ne peut s'obtenir que par des passages successifs et répétés dans l'organisme animal; il est alors possible d'arriver à une virulence extrême que l'on voit notablement baisser dès qu'on met le microbe en culture dans les milieux habituels.

Produits formés dans les cultures. — Nous savons déjà que le *Streptocoque pyogène* produit de l'acide lactique dans bien des milieux. D'après Sieber-Schoumoff (1), ce serait en faisant fermenter les sucres; certains Streptocoques produiraient un acide lactique gauche (Streptocoque de l'érysipèle, Streptocoque du sang scarlatineux), d'autres (Streptocoque du pus) de l'acide lactique inactif.

Les cultures dans les liquides, dans le bouillon particulièrement, du *Streptocoque pyogène* virulent renferment, en outre, des produits solubles très intéressants. Roger (2) cultive un Streptocoque virulent sur bouillie de viande recouverte d'une petite couche d'huile, laisse cinq jours à l'étuve à 30°, exprime le liquide et le filtre; le produit tue le lapin à la dose de 13 à 30 centimètres cubes. De ce liquide, il a isolé une toxine précipitable par l'alcool, très toxique pour le lapin, agissant principalement sur la circulation. Cette toxine est détruite par une température de 100°. Ce même auteur a démontré que les cultures chauffées à 110° ou 120°, à l'autoclave, où les produits toxiques sont détruits ou transformés, possèdent une action vaccinante évidente, que manifeste aussi, mais à un degré moindre, le bouillon débarrassé de la toxine par addition d'alcool; ce qui démontre l'existence, à côté de produits toxiques favorisant naturellement l'action du microbe, d'une substance vaccinante à effet contraire, pouvant être utilisée contre l'infection.

Marmorek, avec un Streptocoque à virulence très exaltée, cultivé dans le liquide dont il a été question plus haut, obtient, après avoir tué le microbe par le chauffage, une toxine qui tue le lapin en vingt-quatre à trente-six heures, à la dose de moins d'un centimètre cube.

Bonome et Bombicci croient que le principe toxique est une protéine contenue surtout dans le corps des microbes.

Inoculation expérimentale.

Les effets sont ici des plus variables, suivant le degré de virulence du microbe injecté. Le lapin paraît être l'animal de choix. On l'inocule sous la peau ou dans les veines.

(1) Sieber-Schoumoff, Recherches sur les Streptocoques pathogènes (*Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, 1892, p. 265).

(2) Roger, Produits solubles du Streptocoque (*Soc. de Biol.*, 1891).

En *inoculation sous-cutanée*, à l'oreille, une dose de 1 centimètre cube de bouillon d'une culture vieille de deux à trois jours donne, lorsque le microbe n'est pas complètement dépourvu de virulence, tantôt de simples rougeurs érythémateuses ou une minime suppuration lorsque la virulence est faible, tantôt une plaque érysipélateuse ou un phlegmon de l'oreille dans le cas de virulence moyenne, tantôt enfin une septicémie généralisée avec mort souvent rapide et présence du Streptocoque dans les viscères dans le cas de haute virulence.

L'*injection intraveineuse* tue en vingt-quatre heures ou plus lentement, suivant le degré de virulence du microbe.

L'injection *intrapéritonéale* est aussi active que l'injection intraveineuse. Par une série de passages dans l'organisme animal, la virulence d'un Streptocoque peut considérablement s'exalter, comme l'a démontré Marmorek (1). Il est alors nécessaire de continuer indéfiniment les passages, en injectant à un lapin neuf le sang de celui qui vient de mourir; le moindre passage dans un milieu de culture fait aussitôt notablement baisser la virulence acquise, sauf peut-être pour le milieu formé de sérum humain et de bouillon peptonisé dont il a été question plus haut. C'est ainsi que Marmorek est arrivé à obtenir dans ce milieu des cultures tuant le lapin à la dose de 1 milliardième de centimètre cube.

Les souris sont aussi très sensibles ; les cobayes, les rats et les chiens moins. L'âne et le cheval, le mouton surtout, résistent bien aux Streptocoques de virulence moyenne, mais réagissent beaucoup aux injections de Streptocoque très virulents.

Roger (2), Monti (3), Vincent (4), ont montré qu'on pouvait exalter ou renforcer la virulence d'un Streptocoque en inoculant en même temps des cultures ou simplement des produits toxiques solubles d'autres microbes, le *Micrococcus prodigiosus*, le *Proteus vulgaris*, le *Bacille typhique*. C'est la raison pour laquelle les infections par le *Streptocoque pyogène* sont si dangereuses chez l'homme lorsque ce microbe se trouve en compagnie d'espèces saprophytes qui se développent avec lui, comme je l'ai observé pour le *Bacillus Zopfii* et le *Proteus vulgaris* dans des cas de phlegmons diffus à terminaison rapidement mortelle (5).

Immunité et sérothérapie.

Roger (6) le premier a conféré l'immunité à des lapins en leur injectant, à plusieurs reprises, des bouillons de culture portés à 120° ; nous avons vu qu'une telle température détruit les produits toxiques présents dans les cultures et y laisse subsister une substance à propriétés

(1) Marmorek, Le Streptocoque et le sérum antistreptococcique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 593).

(2) Roger, Effets des associations microbiennes (*Soc. de Biol.*, 19 janvier 1889).

(3) Monti, Influenza dei prodotti tossici sulla restituzione della virulenza ai microparassiti attenuati (*Acc. dei Lincei*, II, 1889, n° 7).

(4) Vincent, Étude sur les résultats de l'association du Streptocoque et du Bacille typhique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 141).

(5) *In* Janot, De la pathogénie du phlegmon diffus. Thèse de Nancy, 1888.

(6) Roger, Le Streptocoque (*Soc. de Biol.*, 26 février et 30 mars 1895).

vaccinantes. Marmorek (1) préfère se servir de cultures vivantes dont il faut user à doses très minimes d'abord; l'immunité obtenue de cette manière atteint un bien plus haut degré. Et encore, l'immunité ainsi produite n'est pas absolue; elle est suffisante contre une inoculation de Streptocoque d'une certaine activité, mais ne résiste pas à un microbe plus virulent.

En immunisant de grands animaux, le cheval ou l'âne, à l'égard d'un Streptocoque très virulent, Roger et Marmorek ont obtenu un *sérum antistreptococcique* qui a déjà donné certains résultats chez l'homme dans le traitement des affections à Streptocoques. Les résultats sont encore inconstants, peut-être à cause de cette grande variabilité du microbe qui a abouti à l'établissement de races diverses dont certaines des propriétés biologiques diffèrent, nous l'avons vu, et qui ne se comporteraient pas de la même manière à l'égard de produits défavorables à leur pullulation ou antitoxiques. A l'infection par chacune des variétés du *Streptocoque pyogène*, il faudrait probablement opposer un sérum provenant d'animaux immunisés à l'égard de cette race elle-même. La méthode de Denys (2), consistant à immuniser des chevaux avec des mélanges de Streptocoques de diverses provenances, devant donner un *sérum polyvalent*, n'a pas encore fait ses preuves.

Bonome et Viola (3) disent avoir obtenu, à l'aide des courants à haute fréquence, la transformation de la toxine des cultures en une antitoxine identique à celle contenue dans le sérum antistreptococcique.

Habitat et rôle étiologique.

Le *Streptocoque pyogène* paraît être extrêmement répandu dans la nature. Certaines de ses particularités en rendent cependant très souvent la recherche et l'identification difficiles, tout spécialement la perte très rapide de la virulence, qui pourrait, plus que toute autre propriété, conduire à une détermination exacte. Eiselsberg (4) l'a, le premier, signalé dans l'air; en exposant des plaques de gélatine dans des salles d'hôpital, il l'a obtenu plusieurs fois; des plaques placées à peu de distance d'érysipélateux lui ont montré des colonies de ce microbe développées autour de petits fragments d'épiderme déposés par l'air. Il est assez commun dans l'eau de rivière ou de puits; c'est une des espèces qui peuvent végéter dans les milieux phéniqués employés pour la recherche du *Bacille typhique* ou du *Colibacille*. J'y ai rencontré les formes troublant et ne troublant pas le bouillon, donnant sur pomme de terre une petite culture blanche polycyclique ou ne donnant pas de culture apparente. Ces Streptocoques de l'eau ne m'ont jamais montré

(1) Marmorek, *loc. cit.*

(2) Denys, Compte rendu des travaux exécutés sur le Streptocoque pyogène à l'Institut de bactériologie de l'Université de Louvain (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 685).

(3) Bonome et Viola, Ueber die Produktion der Streptococcus Antitoxine mittelst Electricität (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 849).

(4) Eiselsberg, Nachweiss von Erysipelkokken in der Luft chirurgischer Krankenzimmer (*Langenbeck's Arch.*, XXXV, 1887, p. 1).

de virulence pour le cobaye; Landmann (1) dit avoir isolé d'une eau de puits un Streptocoque tuant la souris en cinq ou huit jours à la dose de trois dixièmes de centimètre cube.

Chez l'homme sain, le *Streptocoque pyogène* a été trouvé sur la peau, dans la bouche, dans les fosses nasales, dans le vagin, peut-être dans le contenu intestinal. Ces microbes n'ont montré que bien rarement de la virulence. Le *Streptococcus septopyaemicus* que Biondi (2) a isolé de la salive chez l'homme ne peut pas être distingué du *Streptocoque pyogène.*

C'est un agent pathogène des plus importants pour l'homme. Il a la propriété de déterminer des affections souvent très dissemblables, suivant le point par lequel il peut attaquer l'organisme, suivant aussi le degré et la modalité de la virulence qu'il possède. On ne peut que citer les principales de ces manifestations morbides. On le trouve dans nombre d'abcès, de phlegmons, d'ostéomyélites, dans l'érysipèle, dans certaines septicémies, particulièrement dans la septicémie puerpérale, où, d'après Widal (3), il est l'agent infectieux de beaucoup le plus commun, dans la phlegmatia alba dolens des accouchées; très souvent il est la cause de l'infection purulente chirurgicale. Il est très commun dans les angines, où il est souvent le seul agent pathogène à incriminer et produit des fausses membranes aussi dangereuses que celles de la diphtérie; il est l'agent de certaines pneumonies, de bien des pleurésies purulentes; ou bien il occasionne des méningites purulentes, des endocardites. De plus, souvent il vient compliquer par sa présence un grand nombre d'autres affections microbiennes, tuberculose, pneumonie, fièvre typhoïde, grippe, fièvres éruptives, aggravant presque toujours considérablement la maladie, produisant des infections secondaires redoutables. On sait que lorsqu'il accompagne le *Bacille de Loeffler* dans la diphtérie, le pronostic est souvent assombri; ce qui est particulièrement intéressant ici, c'est qu'il favorise alors le passage du Bacille dans le sang, qui ne s'observerait que lorsqu'il y a association du Streptocoque (4). On l'a signalé dans le sang de malades atteints de scarlatine et on a même voulu lui faire jouer un rôle capital dans la transmission de cette affection. On l'a rencontré dans le contenu des pustules de vaccine, où il ne joue non plus probablement qu'un rôle secondaire.

Très répandu dans le milieu extérieur, à la surface de l'organisme sain, il peut y pénétrer dès que l'occasion favorable se présente. Comme il perd très vite sa virulence, il doit alors, pour agir, récupérer rapidement sa puissance nocive d'une manière tout à fait inconnue jusqu'ici.

Recherche et diagnostic.

Les préparations microscopiques faites avec le pus, le sang, les

(1) Landmann, Ueber das Vorkommen virulenter Streptokokken im Trinkwasser (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1893).

(2) Biondi, Die pathogene Microorganismen des Speichels (*Zeitschr. für Hygiene*, II, p. 194).

(3) Widal, Étude sur l'infection puerpérale, la *phlegmatia alba dolens* et l'érysipèle. Thèse de Paris, 1889.

(4) Braun et Thiry, Septicémie diphtérique (*Gaz. des hôp.*, 2, 4 et 9 mai 1899).

sérosités, les coupes de tissus, le font d'ordinaire facilement reconnaître, après coloration au violet, à la thionine phéniquée, et emploi de la méthode de Gram.

L'inoculation directe à la souris, ou mieux au lapin, de ses produits pathologiques est le meilleur moyen de s'assurer de son degré exact de virulence; il est préférable de faire d'abord une culture dans un mélange de bouillon et de sérum liquide à parties égales et d'inoculer après vingt-quatre heures.

Les cultures diverses, s'obtenant facilement, donnent aussi d'excellentes indications; mais il faut se rappeler qu'elles ne renseignent pas, ou seulement d'une façon imparfaite, sur la nocivité exacte du microbe isolé. Le diagnostic du Streptocoque est souvent une opération délicate.

Séro-diagnostic. — La réaction d'agglutination et la réaction sérothérapique ne donnent jusqu'ici que des résultats fort inconstants, dus certainement à l'extrême variabilité du *Streptocoque pyogène.* On retrouve ici les mêmes raisons qui déterminent la grande inégalité dans l'action thérapeutique des sérums antistreptococciques.

MICROCOCCUS CEREUS ALBUS Passet.

(*Staphylococcus cereus albus.*)

Passet a isolé cette espèce du pus. Elle ne paraît avoir aucune action nuisible sur l'organisme ; c'est encore à vérifier (1); les inoculations expérimentales sont toujours restées sans effet, même avec des doses très fortes. Elle peut se rencontrer dans l'intérieur des globules de pus et s'y trouve alors en diplocoques. Dans du pus d'urétrite, il peut y avoir confusion avec le Gonocoque, mais ce dernier se décolore par la méthode de Gram, qui laisse notre espèce colorée.

Les coccus ont un diamètre très irrégulier, qui varie de 0,6 μ à 0,16 μ; ils sont isolés, disposés par deux, en petits amas ou en courtes chaînes.

En culture sur plaque de gélatine, il se développe, au bout de trois jours, des colonies rondes, à bords lisses, légèrement granuleuses, qui s'étalent à la surface de manière à former de petites taches blanches. La gélatine n'est pas liquéfiée.

En piqûre dans un tube de gélatine, on obtient, en trois ou quatre jours, une culture blanche, formée souvent de petites masses perlées contiguës ; à la surface se trouve une tache grisâtre, mate, ressemblant à une mince pellicule de cire blanche.

Sur gélose, on a d'abord des colonies rondes, d'un blanc mat, ressemblant à des gouttelettes de stéarine, puis un large revêtement blanc à teinte grisâtre, à bords irréguliers, très sinueux, parfois dentés. Souvent la culture est formée de petites colonies rondes se touchant ou se confondant. Les caractères des cultures sur sérum sont identiques.

Sur pomme de terre, il se forme une couche grisâtre, plus épaisse au milieu qu'aux bords.

(1) Grixoni, Due casi di setticemia da Micrococcus cerecus albus (*Giorn. med. d. r. esercito*, août 1898).

Le développement est rapide, dans les *bouillons*, à une température de 30-35 degrés.

J'ai rencontré cette Bactérie dans une eau de puits (1).

Cette espèce est peut-être à identifier avec quelque saprophyte.

MICROCOCCUS CEREUS FLAVUS PASSET.

(*Staphylococcus cereus flavus.*)

Encore une espèce rencontrée dans le pus par Passet. Très voisine de la précédente par les caractères des éléments, elle s'en distingue surtout par la coloration jaune de ses cultures. Elle ne liquéfie pas la gélatine et forme un revêtement jaune-citron sombre, à reflet mat, ressemblant à une goutte de cire jaune, à bords irréguliers, un peu épaissis. En piqûre, il se produit dans le canal une bande grise, formée de très petites colonies rondes, accolées les unes aux autres.

Les inoculations sous-cutanées et intraveineuses n'ont fourni aucun résultat.

Cette espèce et la précédente agissent peut-être en association bactérienne, en favorisant l'action des espèces pathogènes vraies, comme on sait que le font beaucoup de saprophytes. Comme la précédente, elle n'est peut-être qu'un des Microcoques saprophytes jaunes communs partout.

MICROCOCCUS VIRIDIS FLAVESCENS GUTTMANN.

Guttmann (2) a trouvé ce *Micrococcus* dans la lymphe d'une pustule de varicelle, en compagnie du *Micrococcus pyogenes aureus*, et du *Micrococcus cereus albus*.

Ce sont des coccus sphériques réunis par deux ou plus en petits amas. Ils ont l'aspect et les dimensions du *Micrococcus pyogenes aureus*; aussi n'est-il pas possible de les distinguer dans les préparations. Les cultures seules le permettent; elles s'obtiennent du reste facilement sur tous les milieux en présence de l'air.

Sur plaques de gélatine, il s'est formé, après quarante-huit heures, des colonies circulaires, à bords lisses, colorées en vert jaunâtre. Légèrement granuleuses au début, elles deviennent tout à fait homogènes. Elles ne liquéfient pas la gélatine.

En piqûres sur gélatine, ce *Micrococcus* donne une mince tige verdâtre dans le canal, et à la surface une petite colonie de même nuance; il ne se produit jamais de liquéfaction.

Sur gélose ou sur sérum, il se développe une culture verdâtre, qui s'accroît rapidement. Le bouillon ensemencé se trouble en peu de temps.

Cette Bactérie semble n'avoir aucune action sur les animaux; c'est probablement aussi un saprophyte vulgaire.

(1) MACÉ, Quelques Bactéries des eaux de boisson (*Ann. d'hyg.*, 1888).

(2) GUTTMANN, Bacteriologische Mittheilungen über Varicellen (*Berlin. klin. Wochenschr.*, n° 46, p. 802).

MICROCOCCUS DU CLOU DE BISKRA Duclaux.

Duclaux (1) l'a obtenu de cultures du sang d'un malade affecté de la maladie, commune en Afrique et en Asie, désignée sous le nom de clou de Biskra, clou de Gafsa, bouton du Nil, bouton d'Alep, bouton d'Orient, etc. Toutefois, Brocq et Veillon (2) disent avoir obtenu d'un bouton d'Alep vrai un *Streptothrix* se rapprochant de l'*Actinomyces*. L'affection débute par une série de petits boutons confluents, qui peuvent recouvrir une surface large comme la main. La peau enflammée s'ulcère; l'ulcération, qui a souvent des bords taillés à pic comme un chancre, s'emplit d'une croûte brunâtre. La durée de la maladie est en général fort longue; les plus heureux sont guéris en six mois, d'autres seulement après un an ou deux ans. La guérison se fait spontanément et laisse une cicatrice profonde. La maladie, reconnue depuis longtemps pour éminemment contagieuse, est pour ainsi dire endémique en bien des endroits (3).

Les Microcoques mesurent de 0,5 μ à 1 μ de diamètre. On les trouve isolés, réunis par deux ou plus souvent en grand nombre; ils montrent une motilité bien nette.

Cultures.

Ce microbe se cultive bien sur tous les milieux.

Duclaux l'a cultivé dans du bouillon de veau, où il végétait rapidement à la température de 35 degrés. Chantemesse (4) a donné des détails complets sur les cultures sur milieux solides.

La gélatine est liquéfiée assez vite; on trouve à la surface du liquide des flocons jaune-orange.

Sur gélose, on obtient des taches saillantes blanc mat qui, au bout de cinq à six jours, sont devenues d'un jaune-orange brillant.

L'espèce croît très vite sur pomme de terre; la culture est colorée dès le premier jour.

Ces caractères morphologiques sont très voisins de ceux du *Micrococcus pyogenes aureus*; il existe cependant des différences de culture suffisamment appréciables pour permettre de les distinguer. Le *Micrococcus de Duclaux* liquéfie la gélatine plus lentement et sa culture sur pomme de terre se colore au bout de vingt-quatre heures, tandis que celle du *Micrococcus pyogenes aureus* ne se colore qu'après quatre ou cinq jours. Les inoculations expérimentales lèvent très facilement tous les doutes; le *Micrococcus du clou de Biskra* reproduit en effet constamment des lésions qui rappellent de très près l'affection primitive.

La coloration est assez difficile à obtenir; d'après Riehl (5), le microbe se décolorerait par la méthode de Gram.

Des inoculations de cultures, faites à des lapins, déterminent de

(1) Duclaux et Heydenreich, Étude d'un microbe rencontré chez un malade atteint de l'affection appelée clou de Biskra (*Ann. de derm. et de syph.*, 25 juillet 1884, et *Arch. de phys.*, 1884, p. 106).

(2) Brocq et Veillon, Bouton d'Alep (*Soc. de derm.*, 20 mai 1897).

(3) Loustalot, Le bouton de Biskra. Thèse de Paris, 1888.

(4) Chantemesse, Note sur le bouton du Nil (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, p. 47).

(5) Riehl, Zur Anatomie und Aetiologie der Orientbeule (*Vierteljahrsschr. für Dermat. und Syph.*, 1886, p. 805).

fortes poussées de clous et des phénomènes de gangrène de la peau, souvent même des complications métastatiques intéressant surtout le cœur et les séreuses, amenant rapidement la mort.

Les cobayes sont bien moins sensibles ; les injections sous-cutanées ne produisent chez eux que de petits abcès qui guérissent vite.

Dans deux cas d'inoculation de cultures à l'homme, Chantemesse a obtenu des lésions semblables à l'affection indigène, mais à marche plus rapide.

Duclaux a démontré que les cultures perdent leur virulence avec l'âge. Une culture de trois à quatre jours est en pleine virulence; une de dix jours la montre déjà bien amoindrie. Une de deux mois est tout à fait inoffensive, même à fortes doses. Mais, fait tout spécial et bien intéressant, si l'on inocule du bouillon frais avec une de ces cultures inertes, mais cependant encore vivante, la culture que l'on obtient récupère en quelques jours la virulence primitive.

D'après Poncet (1), plusieurs espèces de Bactéries seraient capables de produire l'affection en question. Sur des coupes d'un bouton de Gafsa, colorées au violet de méthyle, il décrit, à côté de Micrococcus de 0,25 μ, des Bacilles dont la longueur varie de 1 μ à 8 μ; les cultures ne donnent que des Micrococques, jamais de Bacilles. Raptschewsky y a trouvé un Streptocoque qu'il identifie avec le *Streptocoque pyogène*.

MICROCOCCUS PYOSEPTICUS Richet et Héricourt.

(*Staphylococcus pyosepticus.*)

Cette Bactérie a été isolée par Ch. Richet et Héricourt (2) d'une tumeur carcinomateuse non ulcérée, située dans le tissu cellulaire de la marge de l'anus d'un chien.

Elle présente de grandes ressemblances avec le *Micrococcus pyogenes albus,* mais possède des propriétés pathogéniques bien spéciales ; il n'y a peut-être ici qu'une différence de race. Cette espèce diffère surtout par une très grande virulence pour le lapin, alors qu'elle paraît à peu près inoffensive pour le chien.

Les différences de culture de ces deux espèces sont peu marquées. Le *Micrococcus pyosepticus*, dans des conditions identiques, liquéfie plus tardivement la gélatine et se développe moins vite dans le bouillon que le Staphylocoque blanc ; l'optimum de température est 36°-39°. Dans le bouillon à 38°, après vingt-quatre heures, on observe dans le liquide, avec le *Micrococcus pyosepticus*, des grumeaux visqueux, blanchâtres, qui se laissent tomber au fond, tandis qu'avec le *Staphylococcus albus* le liquide est uniformément trouble et forme un mince dépôt pulvérulent.

Les caractères pathogéniques sont plus tranchés. L'inoculation au lapin d'une petite quantité de culture de *Micrococcus pyosepticus* produit en très peu de temps un énorme œdème gélatineux, tandis que la même quantité de *Staphylocoque blanc* ne donne qu'une minime

(1) Poncet, Note sur le clou de Gafsa (Tunisie) (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, n° 11, p. 518).

(2) Ch. Richet, Étude physiologique sur un Microbe pyogène et septique (*Arch. de méd. expér.*, I, 1889, p. 673). — Héricourt et Ch. Richet, Sur un microbe pyogène et septique et sur la vaccination contre ses effets (*Soc. de Biol.*, 1888).

infiltration. Chez le chien, l'injection sous-cutanée de *Micrococcus pyosepticus* donne au bout de vingt-quatre heures un abcès à forme hémorragique avec sphacèle de la peau, mais ni œdème, ni mort.

Les cultures s'atténuent par l'âge ou la chaleur ; l'inoculation de cultures atténuées confère l'immunité.

Cette espèce tue les cobayes, les lapins et les pigeons, mais ne tue pas les chiens.

L'injection de cultures au chien à doses progressivement croissantes leur confère rapidement l'immunité complète à l'égard du microbe. En transfusant dans le péritoine de lapins du sang de chiens ainsi immunisés, Héricourt et Ch. Richet ont pu les faire résister à l'infection par le microbe ; le sang des réfractaires et des immunisés contient des principes qui confèrent l'immunité ; c'est là la première expérience et les premiers résultats heureux de sérothérapie.

MICROCOCCUS PASTEURI Sternberg.

(*Pneumocoque*, *Pneumococcus de Fraenkel*, *Diplococcus pneumoniae*, *Micrococcus lanceolatus*.)

Atlas de microbiologie, pl. xiii.

Pasteur, Roux et Chamberland ont décrit, en 1881 (1), un Microcoque trouvé dans le sang de lapins auxquels ils avaient injecté de la salive d'un enfant mort de rage. L'effet produit fut une septicémie mortelle en trente-six heures ; le sang de tous les organes renfermait des Bactéries rondes en grand nombre. Ces expérimentateurs obtinrent les mêmes résultats en injectant à des lapins de l'expectoration de broncho-pneumoniques. Un des caractères les plus apparents a été dès lors signalé, la présence d'une capsule entourant la Bactérie *comme d'une auréole*.

Peu de temps après, Sternberg (2), sans connaître les recherches de Pasteur sur ce point, arrivait à des conclusions identiques et décrivait quelques-unes des particularités de culture de l'espèce, à laquelle il a attribué plus tard le nom qui doit lui être conservé, vu son droit de propriété, *Micrococcus Pasteuri*. Cet observateur admettait alors son identité avec le *Pneumobacille* de Friedlaender, qui s'en distingue par bien des caractères (3).

Jusqu'alors, cette espèce ne paraissait occasionner qu'une maladie purement expérimentale, n'ayant d'analogue dans aucune des affections connues de l'homme ou des animaux. Après Friedlaender (4), qui le confondait avec le *Pneumobacille*, Talamon (5) l'avait cependant signalée dans les crachats des pneumoniques, dans l'exsudat du poumon, obtenu par ponction pendant la vie ou pris à l'autopsie, et une fois dans le sang d'un malade peu de temps avant la mort. Il en avait obtenu des cultures dans des bouillons et déterminé chez des lapins, par injection

(1) Pasteur, Roux et Chamberland, *Bull. de l'Acad. de méd.*, 25 janvier et 22 mars 1881.

(2) Sternberg, *Amer. Journ. of Med. sc.*, avril 1881.

(3) Sternberg, The Pneumoniacoccus of Friedlaender, Micrococcus Pasteuri (*Amer. Journ. of Med. sc.*, July 1885).

(4) Friedlaender, Ueber die Schizomyceten bei der acuten fibrinösen Pneumonie (*Virchow's Arch.*, Bd LXXXVII, 1882).

(5) Talamon, *Soc. anat.*, 1883, et *Soc. de Biol.*, 21 mai 1884.

de liquide de culture, des pneumonies véritables, accompagnées souvent de pleurésie et de péricardite. Les animaux meurent d'habitude du quatrième au cinquième jour, après avoir atteint des températures élevées, jusqu'à 41°,8; certains d'entre eux ont résisté. Talamon ne mentionne pas la présence de la capsule, mais insiste sur la forme ovale, à petite extrémité pointue, des coccus qu'il dit être lancéolés, ressemblant à des grains de blé.

Ce sont surtout les recherches de A. Fraenkel (1) qui ont contribué à mettre en évidence son rôle pathogénique important. Le caractère qui l'avait frappé d'abord était son action sur l'organisme du lapin, d'où le nom qu'il lui avait donné, *Micrococcus der Sputumsepticaemie* (Microcoque de la septicémie salivaire) : ce n'est que plus tard qu'il est arrivé à le considérer comme la cause de la pneumonie chez l'homme. Actuellement, pour tous (2), c'est l'agent essentiel de la pneumonie infectieuse; le *Pneumobacille de Friedlaender* ne joue, lorsqu'il s'y rencontre, qu'un rôle de saprophyte, pouvant envahir le poumon malade ou mort. Tout comme son congénère, il ne se localise pas toujours dans les poumons, mais pénètre dans la circulation générale et provoque des inflammations métastatiques, qui affectent surtout les grandes séreuses, d'où ces pleurésies, péricardites, endocardites, méningites, péritonites même, consécutives à la pneumonie, pouvant même se déclarer d'emblée, sans que la Bactérie ait porté d'avance son action sur le poumon (3).

Ortmann et Santer (4) ont rencontré exclusivement le Pneumocoque, doué d'une très grande virulence, chez plusieurs sujets atteints de pneumonie, dans le pus de différents abcès des parties molles et dans le pus d'une arthrite suppurée. Picqué et Veillon (5) n'ont rencontré que ce même microbe dans le pus d'une arthrite purulente du genou, consécutive à une pneumonie.

D'après les recherches de Foa et Bordoni (6), cette espèce serait, à l'exclusion de la précédente, la cause constante et exclusive de la méningite cérébro-spinale épidémique; Netter l'a rencontrée 19 fois sur 30 cas de méningite qu'il a observés à ce point de vue. Gram (7) l'a trouvée dans le sang des pneumoniques.

Depuis, il a été reconnu que ce *Micrococcus* existait dans la bouche à l'état normal. Netter (8) l'a isolé en employant la méthode primitive

(1) Fraenkel, Die genuine Pneumonie (*Congrès de méd. int. de Berlin*, 1884). — Bacteriologische Mittheilung (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1885, et *Zeitschr. für klin. Med.*, X, p. 401). — Weitere Beiträge zur Lehre von den Micrococcen der genuinen fibrinösen Pneumonie (*Zeitschr. für klin. Med.*, X, Heft 5-6; XI, Heft 5-6).

(2) Weichselbaum, Ueber die Aetiologie der acuten Lungen-und Rippenfellentzündungen (*Wiener med. Jahrb.*, 1886, p. 483). — Gamaleia, Étiologie de la pneumonie fibrineuse (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888, p. 440).

(3) Netter, De la méningite due au pneumocoque avec ou sans pneumonie (*Arch. gén. de méd.*, avril et juillet 1887).

(4) Ortmann et Santer, *Virchow's Arch. für path. Anat.*, 1890.

(5) Picqué et Veillon, *Arch. de méd. expér.*, janvier 1891.

(6) Foa et Bordoni, *Sem. méd.*, 1887, p. 431.

(7) Gram, Ueber die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt-und Trocken-Præparate (*Fortschr. der Med.*, 1884).

(8) Netter, De l'endocardite végétante ulcéreuse d'origine pneumonique (*Arch. de phys.*, VIII, 15 août 1886, p. 106). — De la présence du microbe de la pneumonie dans la bouche des sujets sains (*Bull. méd.*, 1er mai 1887). — Du microbe de la pneumonie dans la salive (*Soc. de Biol.*, 1888). — Et *passim* dans les *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1888 et 1889. — Voy. aussi : Le Pneumocoque, revue critique (*Arch. de méd. expér.*, 1890).

de Pasteur, l'injection de salive dans la jugulaire de lapins. D'après lui, il n'existerait pas toujours dans la bouche, mais peut disparaître à un moment donné, pour reparaître plus tard. On le retrouve pendant une période très longue dans la salive des anciens pneumoniques ; mais, fait bizarre, il est inactif pendant les deux semaines qui suivent la défervescence ; puis récupère sa virulence, qu'il garde alors longtemps. Vignal (1) et Biondi (2) l'ont isolé directement de la salive, à l'aide des cultures sur plaques. L'influence pathogène du microbe est tenue en échec, chez l'homme sain, par l'activité des éléments phagocytaires du poumon.

Morphologie.

Caractères microscopiques.

Ces caractères varient suivant qu'on examine le microbe provenant de l'organisme ou de culture en milieux artificiels. Dans l'organisme, il présente un aspect plus spécial. Talamon et Fraenkel ont été les premiers à signaler la forme particulière des éléments de cette espèce. Ce



Fig. 174. — Exsudat pneumonique. Les capsules sont colorées (d'après Netter).



Fig. 175. — Diplocoques des crachats de pneumonie (obj. 12, homog., oc. 4, Vérick).

sont des coccus (fig. 174) ovales, allongés, en forme de grain de blé ou d'orge (Talamon), ou en forme de lancette (Fraenkel); ils sont rarement isolés, bien plus souvent en diplocoques ou en courtes chaînes de quatre à six éléments et toujours immobiles. Chez les individus associés en diplocoques, les pointes de deux éléments sont tournées toutes deux vers l'extérieur. Dans les cultures sur milieux liquides, ses éléments restent souvent associés en chaînettes plus ou moins longues (fig. 176). La forme et les dimensions des

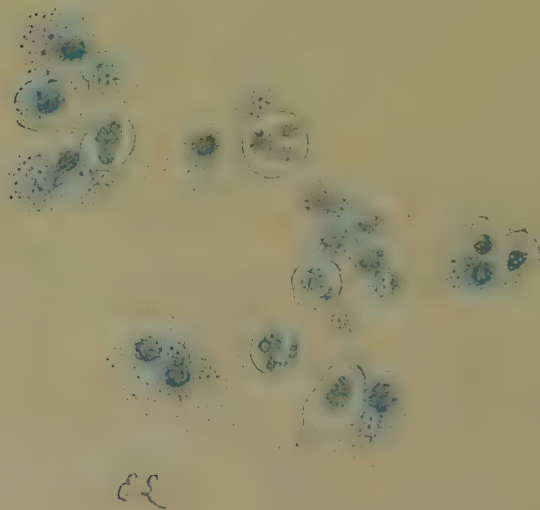


Fig. 176. — Pus de méningite suppurée, compliquant une pneumonie double avec *Pneumocoques* (Vérick, obj. 12, homog., oc. 1).

(1) Vignal, Recherches sur l'action des microorganismes de la bouche sur quelques substances alimentaires (*Arch. de phys.*, 1887, p. 200).

(2) Biondi, Die pathogenen Microorganismen der Speichels (*Zeitschr. für Hygiene*, II, 2e p., p. 194).

coccus sont du reste assez variables; on en trouve de sphériques, de 0,5 μ de diamètre, et d'autres plus ovoïdes ayant en longueur de 1 μ à 1,5 μ sur 1 μ de large. Dans certaines cultures, la longueur pourrait même l'emporter plus que d'habitude sur la largeur; on aurait alors de courts bâtonnets. De là vient que certains auteurs décrivent cette espèce comme appartenant au genre *Bacillus*. Les raisons ne sont pas encore assez sûrement établies pour admettre sans restriction cette opinion.

Les coccus sont entourés d'une zone gélatineuse épaisse, d'une sorte de capsule, très évidente dans les préparations de crachats pneumoniques ou l'exsudat de méningite. D'après Pane (1), cette capsule serait une sorte de dégénérescence de la partie externe de la membrane. La capsule pourrait faire défaut à un stade très avancé de la pneumonie. Elle peut du reste manquer sans raison apparente.

Dans les cultures, sauf dans celles en milieux albumineux, surtout milieux au sérum et au sang, cette capsule disparaît pour reparaître dans le sang des animaux inoculés avec elles. Les éléments des cultures ont une forme lancéolée moins marquée et sont plus souvent sphériques, en diplocoques ou disposés en chaînes souvent plus longues, principalement dans les bouillons, ce qui les a fait nommer par Gamaléia *Streptococcus lanceolatus Pasteuri*.

Coloration. — Les *Pneumocoques* se colorent très bien aux diverses couleurs d'aniline. Le bleu de Loeffler donne particulièrement de bons résultats.

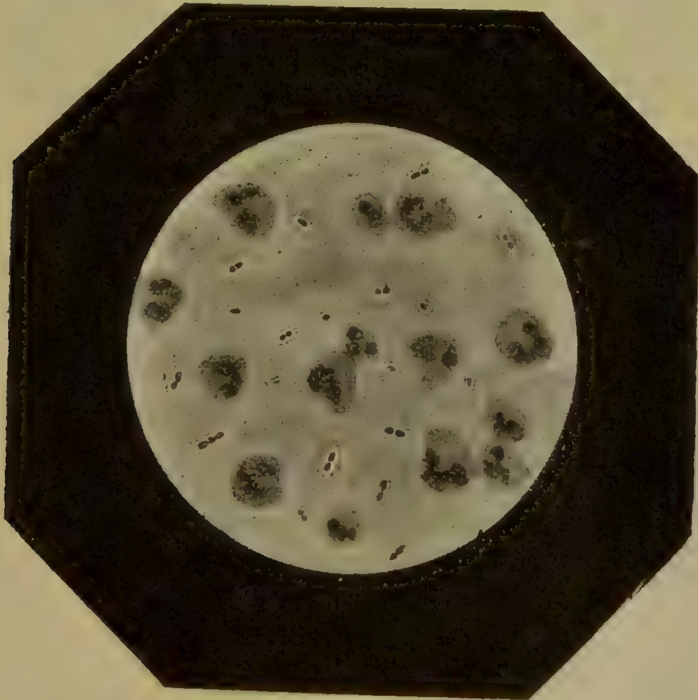


Fig. 177. — Pneumocoques dans le pus d'une péritonite suppurée. 1000/1.

Avec les violets d'aniline, *ils restent colorés* par la méthode de Gram, ce qui les différencie facilement du *Pneumobacille de Friedlaender*; on

(1) Pane, Ueber die Genesis der Kapseln des Pneumococcus (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 289).

peut ainsi obtenir, avec l'éosine, de belles doubles colorations dans le sang ou le pus.

D'après Ribbert (1), on obtient la coloration des capsules en trempant les lamelles préparées dans le mélange suivant saturé à chaud de violet dahlia :

Eau distillée	100
Alcool	50
Acide acétique	12,50

La coloration est très rapide, aussi la durée de l'immersion doit-elle être très courte. On lave aussitôt à l'eau. Les coccus sont colorés en bleu foncé et les capsules en bleu clair.

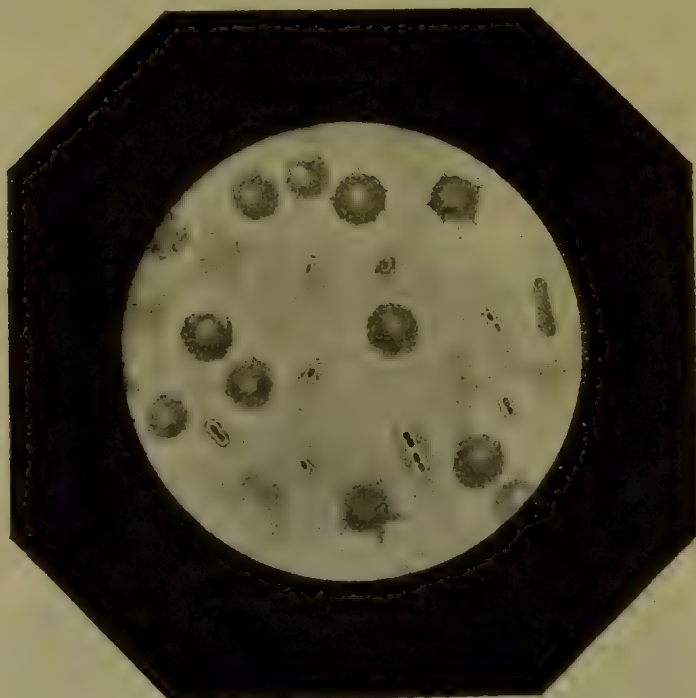


Fig. 178. — Pneumocoques dans le sang d'une souris inoculée avec des crachats de pneumonie. 1000/1.

Mac Conkey (2) conseille pour colorer les capsules la solution suivante :

Dahlia	0gr,5
Vert de méthyle 00 cristallisé	1gr,5
Solution alcoolique saturée de fuchsine	10 centimètres cubes.
Eau distillée	200 — —

D'après Guarnieri, la capsule se colorerait légèrement en rose par le réactif de Millon, ce qui indiquerait qu'elle est de nature albuminoïde.

Pour les rechercher dans les coupes de poumon, Friedlaender (3) colore les coupes dans un bain ainsi formé :

Solution concentrée de violet de gentiane	50
Eau	100
Acide acétique	10

(1) Ribbert, Zur Farbung der Pneumoniekokken (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1885, n° 9, p. 136).

(2) Mac Conkey, *The Lancet*, II, 1898, p. 1262.

(3) Friedlaender, Microscopische Technik, 1885, p. 57.

Il y laisse les coupes pendant un jour et lave avec de l'eau additionnée de 1 p. 100 d'acide acétique. Après la déshydratation par l'alcool, les préparations sont éclaircies à l'essence de cèdre et montées dans le



Fig. 179. — Pneumocoques en chaînettes d'une culture dans le bouillon. 1000/1.

baume. Les capsules restent fréquemment colorées, mais d'une nuance beaucoup plus claire que les *Micrococcus* qu'elles renferment.

Cultures.

Les cultures ne se développent bien qu'à partir de 24°; l'optimum de température est vers 27°, le développement s'arrête à 42°. La présence d'oxygène, quoique favorable, n'est pas d'une nécessité absolue; c'est un anaérobie facultatif, qui peut se passer d'air, au moins dans de larges limites. Une légère alcalinité du milieu est une condition essentielle pour réussir les cultures. On arrive à les conserver plus longtemps en ajoutant de la craie qui neutralise l'acide produit.

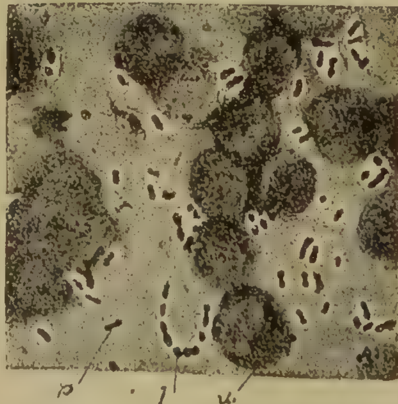


Fig. 180. — Pneumocoques dans la salive (d'après Biondi).

Cultures dans le bouillon. — Cette espèce se cultive bien dans le bouillon, à l'étuve; le liquide se trouble à peine, on observe tout au plus un très léger nuage dans les vieilles cultures et un minime dépôt grenu. Le microbe s'y trouve en chaînettes plus ou moins longues.

Cultures sur plaques de gélatine. — En cultures sur plaques, avec de la gélatine à 15 p. 100 qui se maintient solide à 24°, au bout de trente-six heures on observe dans la gelée de petits points grisâtres, dont les supérieurs arrivent à la surface et s'y étendent en petites taches rondes, d'un blanc grisâtre, qui croissent très lentement et n'atteignent jamais une grandeur moyenne. La gélatine *n'est pas liquéfiée*.

Cultures sur la gélatine. — En *piqûre* dans un tube de gélatine, il se forme une culture *en clou*, peu forte, avec une mince tige blanche, formée de petites colonies sphériques et une tête très peu développée, non bombée; après quelques générations, la forme de clou disparaît et le développement est moins abondant.

Cultures sur gélose. — Sur gélose à 35°, on obtient de petites colonies brillantes, hyalines, peu saillantes, difficiles à apercevoir, ressemblant, comme le dit Fraenkel, à des gouttes de rosée.

Cultures sur sérum. — Dans le sérum liquide, la culture a les mêmes caractères que dans le bouillon. D'après Mosny (1), le sérum du sang de lapin, et surtout de lapin jeune, recueilli aseptiquement, non soumis à un chauffage préalable, constituerait le meilleur milieu de culture pour le Pneumocoque, de beaucoup préférable au sérum de chien, de bœuf, de cheval, de mouton ou d'âne. Le sérum humain, surtout d'adulte, ne paraît pas un bon milieu. En général, l'âge paraît ici influencer sur les qualités du sérum, en plus ou en moins suivant l'espèce (2); le sérum d'animaux jeunes, surtout pour le lapin, paraît en général mieux convenir.

Sur sérum coagulé, le Pneumocoque donne une mince culture muqueuse, presque transparente. Les colonies isolées ressemblent à celles obtenues sur gélose.

Cultures dans le sang défibriné. — Très bon milieu pour ce microbe d'après Gilbert et Fournier (3).

Cultures sur pomme de terre. — On n'observe pas de végétation.

Cultures dans le lait. — Le lait est coagulé d'ordinaire; le fait paraît dû à la production d'acide, probablement d'acide formique.

Propriétés biologiques.

Vitalité.

C'est une espèce délicate. Il périt en dix minutes à 56° (Sternberg), vite à 60°, très vite vers 65-70°. Il est tué rapidement par le sublimé au millième et l'acide phénique à 2 p. 100.

La dessiccation, dans les conditions ordinaires, le détruit facilement; mais, protégé par un vernis albumineux, comme dans du sang, du pus

(1) Mosny, Sur la culture du Pneumocoque (*Soc. de Biol.*, 21 décembre 1895).

(2) Bezançon et Griffon, Recherche sur le mode de développement et la vitalité du Pneumocoque dans les divers sérums (*Soc. de Biol.*, 19 février 1898).

(3) Gilbert et Fournier, La culture du Pneumocoque dans le sang défibriné (*Soc. de Biol.*, 11 janvier 1896).

ou des crachats desséchés, il reste vivant pendant trois ou quatre mois en conservant ses propriétés. Le fait est probablement dû au manque de pénétration de l'oxygène; on le conserve, en effet, bien plus longtemps actif en cultures anaérobies.

La vitalité persiste plus dans les milieux liquides. Sur milieux solides, surtout gélose et gélatine, les cultures sont délicates; elles meurent souvent au bout de quatre à cinq jours.

Virulence.

Elle est des plus variables suivant la provenance du microbe.

Dans les cultures, la virulence disparaît tôt, même en réensemençant rapidement. Une température un peu élevée l'affaiblit vite ; les cultures sont tout à fait inoffensives lorsqu'elles ont été maintenues à 42° pendant vingt-quatre heures. Les deuxièmes cultures sont déjà bien moins virulentes que les premières. Les cultures dans le vide gardent leur virulence plus longtemps, pendant trois semaines environ. On peut arriver à une restitution de virulence en inoculant à un lapin simultanément de la culture de Pneumocoque et du bouillon de culture filtré de *Proteus vulgaris*.

Les passages successifs par le lapin, en injections intraveineuse et surtout intrapéritonéale à la dose de quelques gouttes de sang, exaltent notablement la virulence du microbe.

Dans les crachats, toutefois, la virulence persiste longtemps, plusieurs mois sans même présenter d'atténuation (1); elle résiste même à une dessiccation prolongée. Le froid est un bon moyen de conservation. Elle se conserve assez longtemps dans le sang de lapin conservé en pipettes pleines, scellées; Lemière (2) l'a vu persister quatre mois dans le pus d'une pleurésie purulente conservé pendant quatre mois.

Produits formés dans les cultures.

Nous avons déjà signalé la présence d'acide dans les cultures; ce serait surtout de l'acide formique (3).

Les substances toxiques des cultures ne sont pas connues; elles doivent être bien peu stables à cause de la disparition rapide de l'activité. Klemperer signale cependant une toxine que le sulfate d'ammoniaque et l'alcool précipiteraient de bouillons de culture filtrés. Mais cette toxine est peu active. Issaeff (4) a obtenu une toxine assez active du sang et exsudats pleuraux et péritonéaux de lapins ayant succombé aux inoculations de Pneumocoques à virulence exaltée.

(1) Ottolenghi, Ueber die Widerstandsfarhigkeit des Diplococcus lanceolatus gegen Austroknung in den Sputa (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 120). — Spolverini, Sulla resistenza del virus pneumonico negli sputi (*Ann. d'Igiene sperimentale*, 1899, p. 103).

(2) Lemière, Vitalité et virulence du Pneumocoque dans les exsudats pathologiques conservés en dehors de l'organisme (*Journ. des sc. méd. de Lille*, 13 mai 1899).

(3) Wurtz et Mosny, De la réaction acide des cultures du Pneumocoque (*Soc. de Biol.*, 27 janvier 1894, p. 71).

(4) Issaeff, Contribution à l'étude de l'immunité aiguë contre le Pneumocoque (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 260).

Bonardi (1), Griffiths (2), puis Andreini (3), ont reconnu la présence dans les cultures et produits pneumoniques d'une base alcaloïdique toxique à laquelle ils rapportent l'activité des microbes.

Inoculation expérimentale.

L'isolement du microbe se fait facilement en inoculant des crachats à la souris; après deux passages, on le trouve pur dans le sang. Du produit de cultures jeunes, inoculé à des lapins, des souris ou des cobayes, les fait mourir en peu de temps, de vingt-quatre à quarante-huit heures d'habitude; toutefois, les cobayes résistent souvent.

La réceptivité des différentes espèces animales à la septicémie pneumonique est très variable. Les souris sont les plus sensibles; après, viennent, en ordre de sensibilité décroissante, les lapins, les rats, les cobayes, les chiens. Les pigeons sont tout à fait réfractaires.

La souris, blanche ou grise, meurt toujours sans exception après l'inoculation sous la peau. Il suffit de quelques gouttes d'une culture virulente pour la faire périr d'une septicémie aiguë (*Pneumococcie généralisée*) en un délai de douze ou vingt-quatre heures; ici l'infection générale est de règle, tandis que chez l'homme elle est l'exception. On trouve peu de désordres à l'autopsie; un peu d'œdème au point d'inoculation, une rate hypertrophiée, le sang noir et de très nombreux microbes capsulés dans le sang et les organes.

Chez les lapins, les symptômes sont bien voisins. La rate est grande, foncée, dure. Le virus y produit fréquemment des pneumonies ou des pleurésies séro-fibrineuses. Les cultures stérilisées à 120° produisent par inoculation une grosse tumeur qui ne présente aucune tendance à la suppuration.

Les rats, blancs et gris, meurent aussi très régulièrement de la septicémie spéciale; mais, pour arriver à ce résultat, il faut employer des doses plus fortes que pour les animaux précédents.

Les cobayes paraissent résister souvent à l'infection, ou ne présentent qu'une petite réaction locale. C'est un terrain infidèle pour ce virus.

Le mouton ne succombe qu'aux injections de doses très fortes. L'inoculation intrapulmonaire est suivie d'une pneumonie fibrineuse typique, presque toujours mortelle.

Les chiens sont encore plus réfractaires. Il faut, pour les tuer, inoculer des doses massives. L'inoculation intrapulmonaire développe une véritable pneumonie franche qui guérit presque toujours, après avoir passé par les phases d'hépatisation rouge et d'hépatisation grise, en tout semblables à ce qui se passe chez l'homme.

Gamaléia classe l'homme parmi les animaux résistant au virus pneumonique, d'après la mortalité pneumonique faible (10,8 p. 100), la réaction locale étendue qu'il présente dans la forme de l'inflammation des poumons et la rareté des microbes dans son sang. Pour lui, la pneumonie n'est pas une infection générale, se localisant de prédilec-

(1) Bonardi, Prima ricerche sulla chimica del diplococco capsulato di Fraenkel (*Rivista generale di clinica medica*, 1889, nos 7 et 8).

(2) Griffiths, *C. R. de l'Acad. des sc.*, CXIII, p. 656.

(3) Andreini, Beiträge zur Studium der basischen Produkte des Diplococcus pneumoniae (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 678 et 736).

tion dans le poumon, mais bien « la réaction locale à l'endroit de l'inoculation virulente ».

Pour observer l'infection chez les animaux, il suffit d'ordinaire de quelques gouttes de bouillon de première culture, injectées sous la peau. Il se produit dans ce cas une véritable septicémie, la *septicémie pneumococcique*; on trouve de nombreux *Pneumocoques* capsulés dans le sang et dans tous les organes; la rate surtout est dure et peut avoir doublé de volume. Il ne paraît pas y avoir de préférence pour les manifestations pulmonaires; on n'observe pas ou peu de réaction au point d'inoculation. Talamon a cependant obtenu de véritables pneumonies en injectant directement, dans les poumons de lapins, du sang contenant de ces *Micrococcus*.

La virulence s'accroît d'ordinaire par passages à travers l'organisme animal, surtout chez la souris et le lapin.

La virulence des cultures doit toutefois être pour beaucoup dans les résultats obtenus. Les accidents d'infection générale, grave et rapidement mortelle, de septicémie pneumococcique, ne surviennent qu'à la suite d'inoculation d'un microbe bien virulent. Avec un Pneumocoque qui n'est pas très virulent, on n'observe guère qu'une lésion locale, puis de l'amaigrissement, le développement de péricardite, de pleurésie, parfois d'arthrites, suppurées ou non, enfin la mort par cachexie à échéance plus ou moins éloignée.

D'après Foa et Bordoni (*loc. cit.*), l'inoculation de cultures atténuées ne produit qu'une inflammation localisée, une sorte de pseudo-tuberculose, après injection dans le poumon, et confère aux moutons l'immunité pour les cultures virulentes. Les lapins inoculés avec des virus très atténués acquièrent l'immunité.

Immunité et sérothérapie.

Il est possible de vacciner les animaux contre l'infection pneumococcique. Fraenkel et Emmerich y sont parvenus les premiers en injectant des dilutions de cultures virulentes. Netter, Foa et Scabia (1) conseillent d'employer des cultures à virulence atténuée. Issaeff (2) a obtenu facilement l'immunisation de lapins en se servant de cultures stérilisées par filtration ou par addition de chloroforme et chauffées à 60° ou 65°. Le liquide est injecté dans le sang de ces animaux à doses successivement croissantes de 10 à 50 centimètres cubes. Il se produit une réaction plus ou moins forte, de la fièvre, une notable diminution de poids. Souvent une seule injection de 10 centimètres cubes de toxine suffit pour rendre le lapin réfractaire à un haut degré à l'infection pneumococcique. G. et F. Klemperer (3) ont également obtenu l'immunisation d'animaux par l'injection de crachats pneumococciques, d'exsudats à pneumocoques stérilisés, de sérum sanguin de pneumoniques; Mosny (4) est arrivé à un résultat analogue avec des macérations filtrées

(1) Foa et Scabia, Sulla immunita e sulla terapie delle pneumonite (*Gazz. med. di Torino*, 1892).

(2) Issaeff, *loc. cit.*, p. 373.

(3) Klemperer, Versuche über Immunisierung und Heilung bei der Pneumokokkeninfection (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1891, p. 833).

(4) Mosny, Recherches expérimentales sur la vaccination contre l'infection pneumococcique et sur sa guérison (*Arch. de méd. expér.*, 1892, p. 195).

d'organes de lapins morts de septicémie pneumococcique. Mennes (1), en partant d'un microbe à virulence très exaltée par de nombreux passages chez le lapin, obtient une toxine à l'aide de laquelle il a pu immuniser des lapins, des chèvres, des chevaux. Le sérum de ces derniers animaux serait nettement préventif et curatif à l'égard des infections à Pneumocoques.

D'après Klemperer, le sérum des animaux vaccinés serait nettement antitoxique ; il contiendrait une *antitoxine pneumococcique* ; c'est aussi l'avis de Wassermann (2), qui croit que l'infection pneumonique provoque chez les animaux une irritation de la moelle osseuse qui devient le siège de formation de l'antitoxine. Issaeff pense qu'il n'est pas antitoxique, mais seulement bactéricide.

Il faut, toutefois ici, ne pas trop se hâter de vouloir généraliser à l'homme ce que l'on peut observer chez les animaux d'expériences, surtout chez le lapin, l'évolution de la maladie présentant des différences capitales ; l'infection pneumococcique est, en effet, chez le lapin et d'autres animaux, un processus général, tandis qu'elle reste chez l'homme un processus essentiellement local.

Le sérum d'animaux non sensibles au *Pneumocoque* ne montre aucune efficacité, malgré leur inoculation à forte dose avec des cultures ; d'après Foa et Scabia, il hâterait au contraire la mort des lapins inoculés. c'est donc surtout le sérum de lapins vaccinés qui peut être employé dans un but thérapeutique (3).

G. et F. Klemperer disent en avoir obtenu de bons résultats, à la dose de 6 à 10 centimètres cubes chez des pneumoniques.

Bouchard, Roger, Charrin, Maragliano, ont employé avec succès, chez le lapin, contre l'infection pneumococcique expérimentale, et chez l'homme atteint de pneumonie, le sérum d'hommes pneumoniques pris au début de la convalescence.

Righi (4) a signalé une guérison d'enfant atteint de méningite aiguë pneumococcique à la suite de l'injection d'un centimètre cube de sérum provenant d'un convalescent de même affection.

Habitat et rôle étiologique.

Nous l'avons vu très fréquent chez l'homme où il paraît être pour ainsi dire un habitant normal de la bouche. Il se trouve aussi normalement dans les fosses nasales, souvent dans le mucus des bronches, constamment aussi sur les amygdales (Bezançon et Griffon) (5). Il vit là en saprophyte, souvent même dépourvu de toute virulence ; mais probablement prêt à profiter de toute occasion en pouvant récupérer facilement et très vite son activité.

A l'état pathologique, c'est l'agent le plus habituel de la pneumonie ; on le trouve en abondance dans les crachats, le suc pulmonaire et même

(1) Mennes, Das Antipneumokokken-sérum und der Mechanismus der Immunität des Kaninchens gegen den Pneumokokken (*Zeitschr. für Hygiene*, XXV, 1897, p. 413).

(2) Wassermann, Pneumokokkenschutzstoffe (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1899, n° 9, p. 141).

(3) Roger, Application du sérum sanguin au traitement des maladies (*Congrès de méd. de Nancy*, 1896).

(4) Righi, La seroterapia nella meningite (*La Riforma medica*, III, 1894, p. 566).

(5) Bezançon et Griffon, *Gaz. des hôp.*, 1898, n° 45, p. 413.

le sang des pneumoniques (93 p. 100), où son abondance paraît souvent être en rapport avec la gravité de l'affection (1). Mais il peut en outre, seul ou en associations avec d'autres microbes, déterminer un grand nombre d'autres affections pathologiques. Il y a des stomatites, des parotidites, des otites, des conjonctivites, des méningites, des pleurésies, des arthrites, des endocardites, des ostéomyélites (2), des affections des voies génito-urinaires, de l'intestin, des infections puerpérales (3), dues au Pneumocoque. Wolf (4) le donne comme un des agents habituels de la méningite cérébro-spinale, plus fréquent même que le *Méningocoque* de Weichselbaum. Il peut déterminer seul la formation de fausses membranes croupales et se trouve souvent associé au *Bacille de Loeffler* dans la diphtérie ; les fausses membranes à Pneumocoques sont d'ordinaire épaisses, consistantes. D'après Marchoux (5), il serait l'un des microbes pouvant produire cette forme de méningo-encéphalite désignée en Afrique sous le nom de *Maladie du sommeil*.

En dehors du corps de l'homme, la répartition de ce microbe est peu connue dans les différents milieux naturels, où il doit cependant abonder.

Emmerich (6) a isolé des cultures de Pneumocoque de la poussière située sous le plancher d'une salle où se trouvaient des pneumoniques ; il aurait obtenu des résultats certains chez les souris, à la suite d'inoculation de ces cultures. Uffelmann (7) dit avoir obtenu des cultures caractéristiques de Pneumocoques de l'air d'une cave ; il ne donne aucune preuve expérimentale à l'appui. Netter (8), en inoculant dans le péritoine de jeunes cobayes de la poussière recueillie dans les salles d'hôpitaux, a obtenu, à plusieurs reprises, des péritonites et des pleurésies à Pneumocoques.

Les souris, si sensibles à l'action de ces microbes, joueraient peut-être, dit Gamaléia, un rôle actif dans la propagation des affections pneumoniques, particulièrement dans la production de ces véritables endémies de pneumonie maligne, localisées souvent dans des maisons déterminées, où elles persistent d'une façon très tenace.

Recherche et diagnostic.

On peut avoir à rechercher le *Pneumocoque* dans les crachats, dans le pus, dans le sang, dans des exsudats divers, dans des sucs organiques ou dans les tissus eux-mêmes. En général, le pus à Pneumocoques est épais, souvent grumeleux, riche en globules.

(1) Silvestrini et Sertoli, *Settim. Med.*, 13 mai 1899.

(2) Blecher, Sur un cas d'ostéomyélite à Pneumocoque (*Sem. méd.*, 1899, n° 3, p. 23).

(3) Schuhl et Thiry, Infection puerpérale à Pneumocoques (*Revue méd. de l'Est*, 1897). — Hergott, Infection puerpérale à Pneumocoques (*Soc. de méd. de Nancy*, 26 mai 1897).

(4) Wolf, Ein Beitrag zur Aetiologie der circumskripten Meningitis (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1897, n° 10).

(5) Marchoux, Rôle du Pneumocoque dans la pathologie et dans la pathogénie de la maladie du sommeil (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 193).

(6) Emmerich, Pneumoniekokken in der Zwischen-Deckenfüllungs als Ursache einer Pneumonie (*Fortschr. der Med.*, 1884).

(7) Uffelmann, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1887, n° 39, p. 726.

(8) Netter, Présence du Pneumocoque dans les poussières des salles d'hôpitaux (*Soc. de Biol.*, 29 mai 1897).

Pour la constatation du Pneumocoque, les procédés de culture ordinaires ne donnent que des résultats très irréguliers; les préparations colorées ou l'inoculation aux animaux sensibles permettent au contraire de poser des conclusions positives.

Bezançon et Griffon (1) préfèrent cependant à l'inoculation directe, comme moyen plus sensible, la culture dans le sérum de lapin jeune suivie, au bout de vingt-quatre heures, d'inoculation à la souris.

En opérant comme il a été indiqué plus haut, on distingue très facilement les doubles coccus lancéolés, *restant colorés* après traitement par la méthode de Gram, montrant souvent leur capsule transparente qui retient parfois un peu de matière colorante.

L'inoculation aux animaux sensibles est certainement le moyen de recherche le plus sûr. On se sert de lapins ou de souris; Netter prend le lapin; Gamaléia recommande la souris comme l'animal réactif du *Pneumocoque*. On injecte de la salive ou du suc du poumon; l'injection intraveineuse est préférable. L'animal succombe toujours à la septicémie spéciale (*septicémie pneumonique*). Les lésions viscérales sont peu importantes; la rate seule est très hypertrophiée. Le sang et les différents organes renferment des quantités de Diplocoques spéciaux qui se montrent, après coloration, entourés de leur auréole.

Comme l'injection intraveineuse de suc pneumonique ou de crachats amène souvent la mort par embolie, que le Pneumocoque est parfois peu abondant dans le sang de l'animal inoculé et peut y être dépourvu de capsules, que par l'injection sous-cutanée à la souris les microbes sont encore plus rares dans le sang, Honl (2) propose l'injection sous-cutanée à l'oreille du lapin, toujours suivie de signes bien particuliers. Au bout de vingt-quatre heures, l'oreille est œdématiée; l'œdème envahit bientôt toute la tête et surtout les parties molles de la mâchoire inférieure. L'animal meurt en deux ou trois jours, quelquefois plus lentement si le Pneumocoque est plus virulent. Dans le liquide qui sort de la région œdématiée, on trouve de nombreux Pneumocoques encapsulés, donnant facilement des cultures pures. Dans les autres affections que la pneumococcie, les crachats n'amènent pas la mort du lapin parce que les Pneumocoques sont trop peu abondants et trop peu virulents pour tuer le lapin par cette voie.

Séro-diagnostic. — Les sérums des pneumoniques, et celui des animaux immunisés contre le Pneumocoque, possèdent des propriétés agglutinatives manifestes vis-à-vis des cultures du microbe. Les amas se forment plus ou moins bien, suivant les cas, avec un microbe récemment retiré d'exsudat pneumonique; on n'obtient souvent rien avec les cultures entretenues depuis quelque temps dans les laboratoires (3). La réaction peut se produire ici alors que le microbe se trouve dans le sang.

La réaction à l'antitoxine ne donne pas encore de résultats bien nets.

(1) Bezançon et Griffon, Milieu de diagnostic et milieu de conservation du Pneumocoque (*Soc. de Biol.*, 12 mars 1898).

(2) Honl, Experimentelles Pneumokokkenoedem und dessen diagnostische Bedeutung (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 274).

(3) Bezançon et Griffon, Pouvoir agglutinatif du sérum dans les infections expérimentales et humaines à Pneumocoques (*Soc. de Biol.*, 5 et 19 juin 1897). — *Id.*, Du séro-diagnostic des affections à Pneumocoques (*Congrès franç. de méd. de Montpellier*, 1898).

MICROCOCCUS DANS LA PÉRIPNEUMONIE DU BŒUF

ARLOING.

Arloing (1) a isolé plusieurs microbes arrondis de la sérosité des poumons de bœufs atteints de péripneumonie. Deux paraissent être les *Micrococcus cereus albus* et *M. cereus flavus*, n'ayant aucune action pathogène certaine. Deux autres semblent spéciaux; Arloing les nomme *Pneumococcus lichenoides* et *Pneumobacillus liquefaciens bovis*. Ils sont ronds dans les milieux liquides et donnent des articles ellipsoïdes, en forme de courts bâtonnets sur les milieux solides.

Pour Arloing, le *Pneumobacillus liquefaciens bovis* est le microbe spécifique de cette affection contagieuse. L'inoculation de produits de sa culture détermine des phénomènes assez semblables à ceux qu'occasionne l'inoculation de la sérosité virulente fraîche du poumon. C'est, du reste, aussi le seul qui se rencontre toujours dans tous les poumons malades, les autres pouvant manquer. C'est une forme en bâtonnets qui sera étudiée dans le genre *Bacillus*.

L'inoculation sous-cutanée d'un demi-centimètre cube de bouillon de culture à une génisse donne une tuméfaction plate, œdémateuse, qui disparaît en cinq ou six jours en laissant une induration.

MICROCOCCUS INTRACELLULARIS MENINGITIDIS

WEICHSELBAUM.

(*Diplococcus intracellularis meningitidis*, *Méningocoque*.)

ATLAS DE MICROBIOLOGIE, PL. XX.

Weichselbaum (2) a décrit sous le nom de *Diplococcus intracellularis meningitidis* un microbe rencontré dans une série de cas de méningite cérébro-spinale aiguë et en a fait l'agent spécifique de cette affection. Les recherches de Jaeger (3), de Scherer (4), de Heubner (5) et de beaucoup d'autres (6) sont venues confirmer les données de Weichselbaum et démontrer le rôle, important sinon exclusif, de ce microbe dans la production de la maladie en question.

Un certain nombre d'autres espèces microbiennes paraissent cependant aussi pouvoir occasionner un même processus morbide, à tel point que l'examen bactériologique seul peut arriver à faire reconnaître la présence d'agents différents, l'examen clinique ne montrant aucune

(1) ARLOING, Détermination du microbe producteur de la péripneumonie contagieuse du bœuf (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 9 et 16 septembre 1889).

(2) WEICHSELBAUM, Ueber die Aetiologie der akuten Meningitis cerebrospinalis (*Fortschr. der Med.*, 1887, nos 18, 19, p. 573, 620, 626).

(3) JAEGER, Zur Aetiologie des Meningitis cerebrospinalis epidemica (*Zeitschr. für Hygiene*, XIX, p. 351).

(4) SCHERER, Zur Diagnose der epidemischen Cerebrospinal-Meningitis (*Centralbl. für Bakt.*, 1re Abth., XVII, 1895, p. 433).

(5) HEUBNER, Zur Aetiologie und Diagnose der epidemischen Cerebrospinal-Meningitis (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1896, no 27).

(6) GRUZU, De la méningite cérébro-spinale épidémique; le Méningocoque Weichselbaum-Jaeger. Thèse de Montpellier, 1899.

donnée différentielle. Mais ici les résultats énoncés varient beaucoup (1). Le tableau suivant, dressé par Wolf (2), et portant sur 174 cas de méningite cérébro-spinale, peut être intéressant à connaître ; il a relevé la présence des espèces suivantes dans la proportion indiquée :

Pneumocoque	44,25	p. 100.
Méningocoque de Weichselbaum	34,48	—
Staphylocoque pyogène	3,45	—
Streptocoque pyogène	8,05	—
Bacille de Friedlaender	1,15	—
Bacille typhique	2,87	—
Bacille de Neumann-Schäffer	1,72	—
Autres Bacilles (*Bacillus coli*, *Bacillus aerogenes meningitidis*, *Bacillus mallei*)	2,87	—
Pas de Bactéries	1,15	—

Ce tableau fait ressortir la grande importance du Pneumocoque déjà signalée précédemment (p. 377). Il confirme aussi l'intérêt que présente le microbe de Weichselbaum, que nous allons décrire.

Tel qu'on le rencontre dans le pus des méninges ou dans le liquide céphalo-rachidien, le *Méningocoque* se présente en diplocoques à éléments irréguliers, aplatis à leur face de contact, rappelant un peu l'aspect habituel du Gonocoque. Les Diplocoques sont très souvent inclus dans les leucocytes ou les globules de pus, rarement libres dans le liquide.

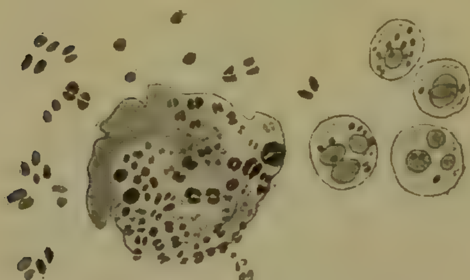


Fig. 181. — Pus de méningite cérébro-spinale (d'après Weichselbaum).

Ils se colorent facilement aux méthodes habituelles et *se décolorent presque toujours* par la méthode de Gram.

Les cultures sont délicates; elles ne se développent qu'à l'étuve à 35°, et atteignent leur maximum en quarante-huit heures. On n'observe presque rien dans le bouillon et rien du tout sur pomme de terre. En cultures sur plaques de gélose, on obtient des colonies rondes, un peu irrégulières, finement granuleuses, à bords crénelés, colorées en jaune brunâtre ; celles qui peuvent s'étendre à la surface du milieu se montrent formées d'un noyau de même apparence entouré d'une sorte d'auréole à bords transparents.

D'après Bezançon et Griffon (3), dans le sérum de lapin jeune, milieu de choix pour le Pneumocoque, le Méningocoque se cultive facilement en chaînettes et en amas, comme s'il était spontanément agglutiné, alors que le Pneumocoque y pousse en Diplocoques disséminés dans tout le liquide.

Les formes des cultures sont identiques à celles observées dans les

(1) Kamen, Zur Aetiologie der Cerebrospinal-Meningitis (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 545).

(2) Wolf, Ein Beitrag zur Aetiologie der circumskripten Meningitis (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1897, n° 10).

(3) Bezançon et Griffon, Caractères distinctifs entre le Méningocoque et le Pneumocoque fournis par la culture dans les sérums (*Soc. méd. des hôp.*, 9 décembre 1898).

tissus ou l'exsudat; toutefois, les éléments sont plus régulièrement arrondis.

Les cultures perdent très vite leur virulence, qui s'est beaucoup amoindrie après trois jours et a complètement disparu après six. Les souris sont très sensibles aux inoculations. Les injections dans la cavité pleurale donnent une pleurésie, dans l'exsudat de laquelle on trouve des Diplocoques formant de gros amas; il existe des noyaux d'hépatisation dans les poumons; la mort arrive de trente-six à quarante-huit heures. Les injections sous-cutanées sont sans effet. Trois chiens, auxquels on en avait inoculé sous la dure-mère, ont succombé à une pachyméningite et encéphalite aiguë : chez un seul, toutefois, il y avait des coccus dans l'exsudat. Les cobayes ne meurent qu'à la suite d'inoculations intrapleurales ou intrapéritonéales.

La recherche et le diagnostic se font surtout par l'examen microscopique du pus ou des exsudats. Le caractère qui doit surtout guider est l'inclusion de la plupart des éléments dans les globules de pus.

Sur le vivant, la recherche peut se faire en examinant le liquide obtenu par la ponction de l'espace sous-arachnoïdien à la partie inférieure de la colonne lombaire. Cette *ponction lombaire* (1) se fait avec une seringue stérilisée, en faisant pénétrer l'aiguille entre les lames de la troisième et de la quatrième vertèbre lombaire; l'aiguille, à cet endroit, écarte simplement les nerfs de la queue de cheval. Bien dirigée, elle ramène un liquide plus ou moins clair, grumeleux ou franchement purulent, qui sert à faire les recherches.

La présence du Méningocoque a été signalée par Schiff (2) dans les fosses nasales d'individus sains.

Le Méningocoque de Weichselbaum serait aussi l'agent de la méningite cérébro-spinale du cheval (maladie de Borna) (3).

MICROCOCCUS ENTERITIS.

(*Streptococcus enteritis d'Escherich, Entérocoque de Thiercelin.*)

Les formes de Streptocoques décrites par Escherich (4) dans l'intestin des nourrissons et le microbe décrit par Thiercelin (5) comme espèce commensale de l'intestin de l'homme, pouvant à l'occasion devenir pathogènes, doivent bien probablement être rapportées à un même type microbien doué d'un grand polymorphisme.

Morphologie. — Dans les selles normales, où il se rencontre souvent

(1) Denigès et Sabrazès, *Revue de méd.*, 1896, p. 833.

(2) Schiff, Ueber des Vorkommen des Meningococcus intracellularis in der Nasenhöhle nicht Meningitis-kranker Individuen (*Centralbl. für innere Med.*, 1898, nº 22, p. 577).

(3) Scheidemuhl, Neueres über die seuchenartige Cerebrospinal-Meningitis der Pferde (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1888, p. 892).

(4) Escherich, Die Darmbacterien der Saüglings und ihre Beziehungen zur Physiologie der Verdauung (*Fortschr. der Med.*, 1885). — *Id.*, Die Bedeutung der Bakterien in der Aetiologie der Magendarmerkrankungen der Saüglinge (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1898, nºs 40 et 41). — *Id.*, Ueber Streptokokken Enteritis im Saüglingsalter (*Jahrb. für Kinderheilkunde*, XLIX, 1899, p. 137).

(5) Thiercelin, Sur un Diplocoque saprophyte de l'intestin susceptible de devenir pathogène (*Soc. de Biol.*, 15 avril 1899). — *Id.*, Morphologie et mode de reproduction de l'Entérocoque (*Ibid.*, 24 juin 1899).

en grand nombre, il se présente le plus souvent sous la forme de Diplocoques de volume variable, à grains arrondis ou lancéolés, comme le *Pneumocoque*, entourés même parfois d'une capsule ; d'autres fois, les Diplocoques sont associés en chaînettes donnant des formes de Streptocoques ; certains éléments peuvent même donner de petits bâtonnets. Dans certaines affections intestinales, il est beaucoup plus abondant dans les selles, où il présente du reste les mêmes variations de forme.

Dans ses cultures, on trouve surtout la forme en Diplocoques, avec ou sans auréole, puis des chaînettes de longueur moyenne.

D'après Thiercelin, il pourrait se former des spores dans les éléments.

L'*Entérocoque* se colore facilement aux couleurs d'aniline et *reste coloré* par la méthode de Gram.

Cultures. — Les cultures s'obtiennent difficilement en partant des selles normales, facilement au contraire avec les selles pathologiques qui contiennent ce microbe.

Culture dans le bouillon. — Le liquide peut se troubler et donner après quelques jours un dépôt blanchâtre muqueux ; ou le milieu reste limpide et il se forme, sur les parois et au fond du tube, un léger piqueté floconneux qui rappelle l'aspect donné fréquemment par le *Streptocoque pyogène*.

Culture sur gélose. — Il s'y forme de petites colonies rondes, punctiformes, transparentes, ressemblant beaucoup aux cultures du *Pneumocoque* sur ce même milieu.

Culture sur gélatine. — Les cultures se font à la température ordinaire et ressemblent à la fois à celles données par le *Streptocoque pyogène* et le *Pneumocoque*.

Inoculation expérimentale. — L'Entérocoque n'est pas pathogène pour le cobaye. Il l'est peu pour le lapin qui n'est tué que par de très fortes doses en injections sous-cutanées.

Il est très pathogène pour la souris ; 1 centimètre cube de culture dans le bouillon la tue en vingt-quatre heures. On trouve quelques Diplocoques auréolés dans le sang et des matières diarrhéiques dans l'intestin grêle.

Rôle étiologique. — Il paraît être un microbe saprophyte, commensal de l'intestin normal, mais susceptible de devenir virulent et de jouer un rôle important en pathologie intestinale. On doit lui rapporter probablement pas mal d'entérites infectieuses, particulièrement des entérites des nourrissons et des jeunes enfants, des entérites muco-membraneuses de l'enfant ou de l'adulte (1). Il abonde dans les mucosités glaireuses du contenu intestinal et paraît jouer un rôle dans la production de l'appendicite ; peut-être doit-on lui rapporter certains cas d'embarras gastrique (on le rencontre en effet aussi dans l'estomac) et d'ictère infectieux. L'association avec le *Colibacille* paraît favoriser l'action des deux microbes (2).

(1) Hirsh, Ein Fall von Streptokokken-Enteritis im Saüglingsalter (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 369). — Libmann, Weitere Mittheilungen über die Streptokokken-Enteritis bei Saüglingen (*Ibid.*, p. 376). — Spiegelberg, Ein weiterer Beitrag zur Streptokokken-Enteritis im Saüglingsalter (*Ibid.*, XXIV, 1898, p. 49).

(2) Hutinel, Entéro-côlite aiguë (choléra sec) chez les enfants (*Sem. méd.*, 1899, nº 4, p. 25). — De Nobécourt, Sur la pathogénie des affections gastro-intestinales des jeunes enfants (*Sem. méd.*, 1899, nº 22, p. 169, et Thèse de Paris, 1899).

Par bien des caractères, il se rapproche du *Streptocoque pyogène* et du *Pneumocoque*, à tel point qu'on serait tenté de le regarder comme un type intermédiaire entre ces deux microbes. Il présente aussi des ressemblances certaines avec le *Méningocoque*.

MICROCOCCUS TETRAGENUS Gaffky.

(*Tétragène.*)

Atlas de microbiologie, pl. XXI.

Il a été signalé par Koch, qui l'avait trouvé dans le contenu d'une caverne pulmonaire. C'est Gaffky (1) qui lui a donné son nom et a fourni les premiers détails sur sa morphologie.

Tout à côté de cette première espèce, à considérer comme espèces bien distinctes ou comme variétés, viennent les *Micrococcus tetragenus septicus*, *Micrococcus tetragenus albus* et *Micrococcus tetragenus aureus* décrits par Boutron (2). Le premier, virulent, provenait de crachats de phtisiques. Le second, à cultures blanches, non virulent, a été rencontré dans la bouche d'individus sains. Le troisième, non virulent, à cultures jaunâtres, s'est trouvé sur le mamelon, et dans le lait de femmes.

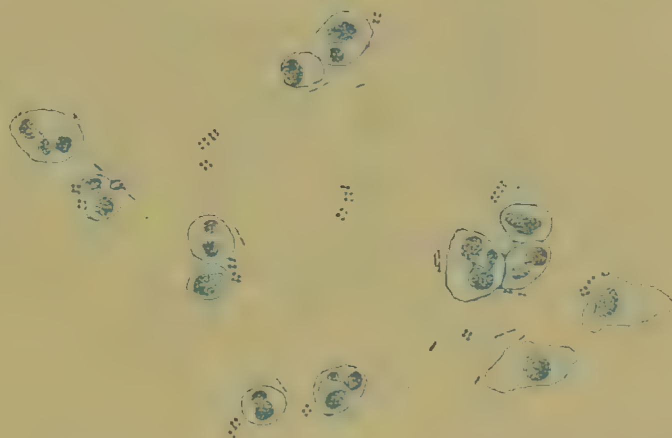


Fig. 182. — Crachats contenant des *Micrococcus tetragenus* et des *Bacilles de la tuberculose*. 600/1.

On doit peut-être encore placer ici le *Micrococcus tetragenus mobilis ventriculi* de Mendoza (3), qui présente une mobilité bien évidente, et le *Micrococcus tetragenus concentricus* trouvé par Schenk (4) dans les selles. P. Teissier (5) a donné une bonne monographie du *Micrococcus tetragenus*. Le travail de Bosc et Galavielle (6) contient aussi beaucoup de données intéressantes.

Morphologie. — Les éléments sont des coccus sphériques de 1 μ et plus de diamètre, qui, provenant de l'organisme, se montrent

(1) Gaffky, Ueber antiseptische Eigenschaftes der in der Esmarch'schen Klinik als Verband mittel benutzten Torfmulls (*Langenbeck's Arch.*, XXVIII, 1893, p. 495).

(2) Boutron, Recherches sur le *Micrococcus tetragenus septicus* et quelques espèces voisines. Thèse de Paris, 1893.

(3) Mendoza, Ueber einen neuen Micrococcus (*Centralbl. für Bakt.*, VI, 1889, p. 566).

(4) Schenk, Micrococcus tetragenus concentricus in Fæces (*Allgem. Wiener med. Zeit.*, 1892, p. 81).

(5) P. Teissier, Contribution à l'étude du Tétragène (*Arch. de méd. expér.*, 1896, p. 14).

(6) Bosc et Galavielle, Recherches sur le *Micrococcus tetragenus* (*Arch. de méd. expér.*, XI, 1899, p. 70).

d'habitude réunis par quatre, d'où vient le nom attribué à l'espèce; dans les cultures âgées, les éléments n'ont souvent que 0,6 μ ou 0,8 μ. Ici, la disposition en tétrades est rare, on trouve souvent des Diplocoques ou des coccus isolés, parfois en chaînettes. L'aspect rappelle un peu celui des *Sarcines*, mais la division ne se fait pas suivant trois directions, comme chez ces dernières. Les tétrades, par leur assemblage, ne donnent jamais des masses cubiques, mais seulement des tablettes, ayant un seul élément dans leur épaisseur, ce qui les distingue des *Sarcines*, fréquentes aussi dans les crachats. Dans les cultures, les éléments sont d'ordinaire isolés ou réunis en amas irréguliers.

A côté de cette forme en tétrades régulières, que l'on peut considérer comme typique, on rencontre dans les cultures et dans l'organisme des formes des plus variées, des tétrades irrégulières, des triades, des Diplocoques, même des coccus isolés; de plus, la grosseur des éléments présente de grandes variations. La figure 183, empruntée à Bosc et Galavielle, donne de bons exemples de ces différents aspects.



Fig. 183. — Formes et aspects divers du Tétragène en cultures (d'après Bosc et Galavielle).

Les tétrades, prises dans l'organisme et surtout observées dans les coupes de poumon ou de rein (fig. 184), paraissent entourées d'une enveloppe gélatineuse moins marquée que celle du Pneumocoque; cette sorte de capsule manque aux coccus des cultures. Ces *Micrococcus* se colorent fortement par les couleurs d'aniline et *ne se décolorent pas* par la méthode de Gram; la capsule ne se colore pas ou faiblement par les violets, mieux par l'éosine.

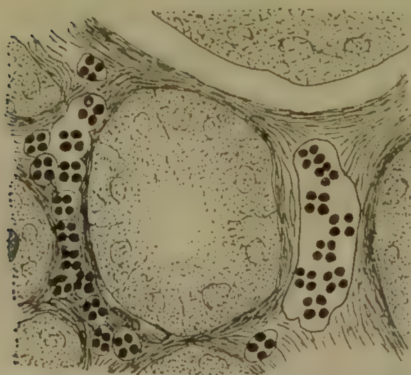


Fig. 184. — *Micrococcus tetragenus*. Rein de souris. 1200/1.

CULTURES. — Le *Micrococcus tetragenus* se cultive bien sur tous les milieux. Il ne croît pas lentement. C'est une Bactérie aérobie, mais pouvant se contenter de très faibles quantités d'oxygène, et peut-être un anaérobie facultatif. La capsule manque toujours dans les cultures. L'optimum de température est vers 37-39°; à 20°, la végétation est très lente; elle ne se fait plus au-dessous de 15 degrés.

En culture sur *plaques de gélatine*, il donne, au bout de deux jours, de petits points blancs dans l'intérieur de la gelée; à un faible grossisse-

ment, ces points ont une teinte gris jaunâtre, une surface granuleuse et des bords sinueux. Les colonies qui arrivent à la surface produisent de petites colonies bombées, d'un blanc brillant, d'aspect porcelané, atteignant 1 ou 2 millimètres de diamètre. *Il ne liquéfie jamais* la gélatine.

En *piqûre* dans un tube de gélatine, il se forme, dans le canal de la piqûre, des colonies rondes, isolées à la partie inférieure, confluentes à la partie supérieure; à la surface, un bouton hémisphérique (fig. 185), blanc laiteux, un peu jaunâtre, ou un disque, déprimé au centre, de même nuance.

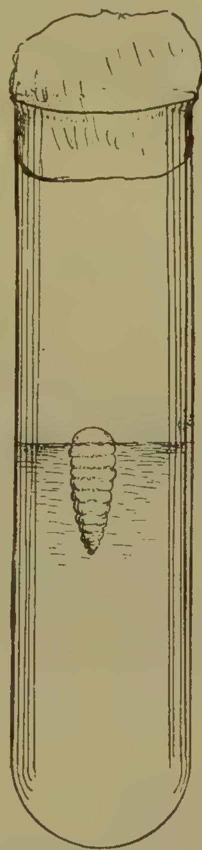


Fig. 185. — Culture de *Micrococcus tetragenus* sur gélatine.

Sur *gélose*, on obtient, le long de la strie, des colonies rondes, blanches, un peu humides, qui confluent en un enduit blanchâtre, crémeux, très visqueux.

Dans le bouillon, il se développe bien ; il y forme un dépôt épais souvent de plusieurs millimètres, visqueux. Le bouillon devient très vite alcalin.

Le *lait* n'est pas coagulé par le *Tétragène* type, qui n'y végète que médiocrement. Chauffard et Ramond (1) ont rencontré un Tétragène blanc qui coagulait le lait, Achard et Gaillard (2) un Tétragène doré qui coagulait après ébullition.

Sur *sérum coagulé*, le développement est rapide ; il donne une culture épaisse, muqueuse.

Sur *pomme de terre*, il se forme de petites colonnes blanches arrondies, qui confluent souvent en une bande blanche visqueuse.

Propriétés biologiques. — C'est un microbe assez résistant, qui conserve facilement sa vitalité en cultures.

Sa virulence est très variable; tantôt nulle ou presque, le plus souvent bien marquée. Elle se renforce par passages dans les organismes réceptifs. Elle se conserve longtemps dans les cultures qui ne paraissent pas subir d'atténuation avec l'âge ; les cultures de Biondi n'avaient encore rien perdu de leur virulence après vingt semaines; à l'Institut d'hygiène de Berlin, des cultures, fréquemment renouvelées, avaient encore, au bout de quatre ans, toute leur puissance d'infection.

Les bouillons de culture filtrés sont peu toxiques et pas pyogènes ; il en est de même des substances stérilisées par la chaleur. Griffiths (3) a isolé des cultures une ptomaïne solide, blanche, cristallisable en aiguilles prismatiques, soluble dans l'eau, tuant les animaux en trente-six heures.

Inoculation expérimentale. — Les cultures sont virulentes pour les souris blanches et les cobayes; les souris de champs et de maison, les

(1) Chauffard et Ramond, Deux cas mortels de septicémie tétragénique (*Arch. de méd. expér.*, 1896, p. 304).

(2) Achard et Gaillard, Contribution à l'étude biochimique des genres Tétragène et Staphylocoque (*Arch. de méd. expér.*, XI, 1899, p. 96).

(3) Griffiths, Ptomaïne du *Micrococcus tetragenus* (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CXV, 1892, p. 418).

lapins, les chiens, les oiseaux paraissent peu sensibles ou réfractaires. Les souris blanches meurent souvent en vingt-quatre heures, après une inoculation sous la peau de très faibles quantités de culture, d'une véritable septicémie. Le sang renferme de nombreuses tétrades; on en trouve de gros amas dans le rein (fig. 184), le foie, la rate; les poumons sont hypérémiés, mais ne présentent pas d'hépatisation. Les cobayes meurent de trois à cinq jours, avec des symptômes moins marqués. Les animaux moins réceptifs, le lapin par exemple, ne présentent qu'une minime lésion locale ; c'est, suivant la virulence, une simple escarre ou un abcès à évolution lente. L'inoculation par voie stomacale détermine, chez le cobaye, de la diarrhée, un amaigrissement rapide et la mort après quelques jours.

Habitat et rôle étiologique. — Miquel dit avoir isolé ce microbe de l'air.

Il est en tout cas commun chez l'homme et les animaux et son habitat de prédilection paraît être les voies digestives antérieures, surtout la bouche ; de là, il peut facilement se répandre ailleurs. Koch le considérait comme un saprophyte, mais pensait cependant qu'il pouvait jouer un rôle actif dans le processus de destruction du tissu pulmonaire chez les phtisiques.

Il est fréquent dans les crachats des phtisiques, accompagnant souvent le *Bacille de la tuberculose* (fig. 182), ou dans le contenu purulent des cavernes. Biondi (1), sur cinquante personnes examinées à cet effet, l'a rencontré trois fois, sans qu'il y ait, chez les individus porteurs, d'indices d'affection pulmonaire. Il semblerait donc pouvoir se rencontrer, assez rarement toutefois, dans la salive à l'état normal. Il y a lieu toutefois de le distinguer de plusieurs espèces de *Sarcines* que l'on trouve dans ces mêmes conditions.

Il paraît pouvoir occasionner une véritable suppuration ; la statistique de Karlinski (2) montre qu'il est encore assez fréquent seul dans le pus d'abcès ou de furoncles. Chez l'homme, c'est le microbe que l'on rencontre le plus souvent dans le pus des abcès dentaires. Netter (3) l'a rencontré dans le pus d'empyème avec le Pneumocoque.

Faisans et Le Damany (4) le signalent dans un épanchement pleurétique, Besançon et Lepage (5) dans le pus d'une méningite, Appert (6) dans des angines d'aspect assez spécial (angine sableuse de Dieulafoy ; Lartigau (7) le dit assez commun dans les angines aiguës. Il est amplement démontré que c'est un agent actif de suppuration chez l'homme ; ce sont surtout, mais non exclusivement, les suppurations dentaires ou celles du voisinage de la cavité buccale qui sont sous sa

(1) Biondi, Die pathogenen Microorganismen der Speichels (*Zeitschr. für Hygiene*, II, 1887, p. 194).

(2) Karlinski, *Centralbl. für Bakt.*, VII, 1890, p. 113.

(3) Netter, Utilité des recherches bactériologiques pour le pronostic et le traitement des pleurésies purulentes (*Bull. de la Soc. méd. des hôp.*, 16 mai 1890, et *Sem. méd.*, 1890, nº 22).

(4) Faisans et Le Damany, Sur la présence du Tétragène dans les épanchements pleurétiques (*Soc. méd. des hôp.*, 2 juillet 1897).

(5) Besançon et Lepage, Méningite suppurée localisée due au Microcoque tétragène (*Soc. méd. des hôp.*, 21 janvier 1898).

(6) Apert, Le Tétragène dans les angines (*Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898).

(7) Lartigau, A contribution to the study of the Micrococcus tetragenus in acute angina (*The Philadelphia med. Journ.*, 22 avril 1899).

dépendance. Des observations de Netter, de Chauffard et Ramond prouvent que ce microbe peut faire non seulement une lésion locale, mais une véritable infection généralisée, une *septicémie tétragénique*, dont les lésions rappellent celles observées chez la souris à la suite d'inoculation virulente.

Recherche et diagnostic. — L'aspect si particulier, les cultures, l'inoculation à la souris, la coloration par la méthode de Gram, feront aisément reconnaître le *Micrococcus tetragenus*.

MICROCOCCUS GONORRHEÆ Neisser.

(*Gonococcus*, *Gonocoque*.)

Atlas de microbiologie, pl. xx.

Hallier (1) avait signalé, en 1872, la présence de *Micrococcus* dans le pus de la blennorragie, et reconnu qu'on pouvait les rencontrer dans l'intérieur des globules du pus. Les premières recherches précises sont de Neisser (2), qui a démontré la constance du microbe qu'il a appelé *Gonococcus* dans la blennorragie et l'ophtalmie blennorragique. Les observations de Weiss (3) ont confirmé celles de Neisser et y ont ajouté des considérations cliniques intéressantes. Les travaux les plus importants sur ce sujet sont sans contredit ceux de Bumm (4), qui a obtenu des résultats bien supérieurs aux précédents; Legrain (5), dans un travail fait à mon laboratoire, a mis en lumière des faits nouveaux d'un grand intérêt.

Ce *Micrococcus* n'est cependant pas la seule espèce que l'on rencontre dans le pus blennorragique. Zeissl (6) en a signalé plusieurs autres, différents d'aspect; Bumm (7) en a isolé, qui seront décrits plus loin; après lui, Giovannini (8) en a cru distinguer cinq espèces, dont deux seulement existeraient dans l'urètre normal. Les caractères de formes et de dimensions de ces *Micrococcus* sont très semblables; aussi ne peut-on guère songer à les différencier que par les cultures. Legrain a obtenu du pus des écoulements urétraux quinze espèces de Bactéries, Microcoques ou Bacilles, dont plusieurs ont des caractères morphologiques voisins de ceux du *Gonocoque de Neisser*. Deux caractères semblent cependant, jusqu'ici, propres au *Micrococcus gonorrheæ* : sa présence, dans une certaine mesure, à l'intérieur des cel-



Fig. 186. — *Micrococcus gonorrheæ*, d'après Bumm : *a*, éléments pris dans une culture, 1200/1; *b*, forme schématique d'un couple.

(1) Hallier, *Zeitschr. für Parasitenkunde*, I, p. 179.

(2) Neisser, Ueber ein der Gonorrheæ eigenthümliche Micrococcenform (*Centralbl. für die med. Wissensch.*, 1879).

(3) Weiss, Le Microbe du pus blennorragique. Thèse de Nancy, 1880.

(4) Bumm, Der Mikroorganismus der gonorrheischen Schleimhaut Erkrankungen. Wiesbaden, 1885.

(5) Legrain, Les Microbes des écoulements de l'urètre. Thèse de Nancy, 1888.

(6) Zeissl, Ueber den Diplococcus Neisser's (*Vierteljahrsschr. für Derm.*, 1887).

(7) Bumm, Beitrag zur Kenntniss der Gonorrheæ der weiblichen Genitalien (*Arch. für Gynæk.*, XXIII, 1884, p. 327).

(8) Giovannini, Die Mikroparasiten der männlichen Harnröhrentrippers (*Centralbl. für die med. Wissensch.*, 1886, p. 365).

lules et surtout des globules du pus, et sa décoloration constante par la méthode de Gram, signalée par G. Roux (1).

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les coccus ont un diamètre moyen de 0,5 μ, qui semble un peu diminuer dans les cas chroniques; d'autres fois, ils atteignent 1 μ. Ils sont d'habitude réunis par couples, en diplocoques, associés fréquemment en petits amas, jamais en chaînettes. Leur forme est ovale; elle apparaît nettement asymétrique à un fort grossissement (fig. 186). L'une des grandes faces des coccus, celle qui est tournée vers le centre du couple dans le diplocoque, est aplatie et légèrement creusée (fig. 186, *b*); l'élément prend alors l'aspect réniforme, celui d'un haricot. Les contours sont même souvent irréguliers; on peut retrouver la forme de cubes à coins arrondis, signalée par Christmas (2). Dans les cultures, les variations sont encore plus grandes, comme l'indiquent Wertheim (3) et Fonseca (4); les grains, très inégaux, sont petits et arrondis, ou plus gros, en forme d'ellipses ou de courts bâtonnets à extrémités arrondies. D'après quelques auteurs, les éléments des couples seraient réunis par une sorte de gangue gélatineuse ou muqueuse rappelant les capsules d'autres microbes. Ils possèdent, dans les cultures, un mouvement bien évident, mais peu prononcé. Legrain leur décrit même trois sortes de mouvements distincts : un mouvement lent de translation du couple, un mouvement d'oscillation des couples sur eux-mêmes, un mouvement de rotation propre à chacun des éléments d'un couple. Moore (5) aurait aussi bien constaté cette mobilité dans le pus blennorragique étendu de solution salée physiologique que dans les cultures sur divers milieux.

Coloration. — Les *Gonocoques* se colorent très bien à l'aide des solutions de couleurs d'aniline ordinairement employées; ils prennent même la couleur d'une façon intense. La solution de Ziehl, le violet ou la thionine phéniqués, réussissent particulièrement bien. Traités par la méthode de Gram, ils se *décolorent* toujours, caractère important pour la diagnose qu'a le premier signalé G. Roux (6); cette décoloration est rapide, il faut faire agir l'alcool rapidement. Toutefois, d'après Weinrich (7), pour être bien sûr du résultat produit, il est nécessaire d'éviter le contact de l'eau. Les préparations, colorées par un séjour de quelques minutes dans la solution de violet, sont portées, *sans être lavées à l'eau*, dans la solution iodo-iodurée où elles sont laissées trois minutes, puis directement dans l'alcool absolu (maintenu absolu par du sulfate de cuivre anhydre) pendant une minute à une minute et demie, jusqu'à

(1) G. Roux, Procédé technique de diagnose des *Gonococci* (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 8 novembre 1886).
(2) Christmas, Le Gonocoque et sa toxine (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 609).
(3) Wertheim, Reinzüchtung der Gonokokken durch Platten cutner (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1891, n° 50).
(4) Fonseca, Le Gonocoque; morphologie, réactions colorantes, inoculations (*Soc. de Biol.*, 16 juillet 1898).
(5) Moore, Demonstration von Gonokokken-Bewegung (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1895, p. 112).
(6) G. Roux, Procédé technique de diagnose du *Gonococci* (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 8 novembre 1886).
(7) Weinrich, Die Färbarkeit des Gonococcus (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 258).

ce que l'alcool n'enlève plus de couleur; alors seulement on lave à l'eau et on peut recolorer à la vésuvine. Un séjour de moins de trente secondes dans l'alcool absolu pourrait, selon Bergh (1), laisser colorés les Gonocoques inclus dans les cellules. D'après Fonseca, cette décoloration ne s'obtiendrait qu'avec le Gonocoque provenant de milieux légèrement acides, cultures ou pus blennorragique; le microbe cultivé en milieux neutres ou alcalins garderait sa coloration après le Gram.

En se basant sur cette propriété de se décolorer au Gram, il est possible d'obtenir une double coloration précieuse dans les préparations qui contiennent ce microbe et d'autres éléments. En colorant d'abord au violet, décolorant par la méthode de Gram et faisant agir un bain d'autre nuance, un bain d'éosine comme le fait G. Roux, ou un bain aqueux de vésuvine comme le recommande Steinschneider (2), on voit les Gonocoques teints en rose d'éosine ou en brun, alors que d'autres espèces qui peuvent se trouver avec eux ou des éléments du produit employé ont gardé la teinte violette du premier bain.

Pour le pus blennorragique, Lanz (3) recommande l'emploi d'un mélange fraîchement préparé de quatre parties de solution de thionine et d'une de fuchsine additionné d'un peu de solution phéniquée. Les Gonocoques se coloreraient en bleu, le protoplasma cellulaire en rouge, les noyaux en l'une ou l'autre nuance.

La gangue qui retient les coccus en couples se colorerait parfois légèrement par la solution de Ziehl. Elle est parfois plus développée et forme comme une petite capsule.

Rapports du Gonocoque avec les éléments du pus blennorragique. — Il est à recommander, pour conserver le plus possible dans les préparations les rapports qui existent entre ces éléments du pus, de ne pas frotter deux lamelles l'une contre l'autre pour étendre la couche à colorer. Il faut étaler le pus sur la lamelle, puis la faire sécher; on évite ainsi de briser les globules de pus et de disperser les Bactéries dans le liquide. En opérant avec des précautions, on ne trouve, pendant la période d'état, que de très rares Micrococques dans le liquide. Et encore ce sont peut-être des Bactéries accessoires qui accompagnent souvent cette espèce; les *Micrococcus gonorrheæ* sont localisés dans l'intérieur des cellules.

Le nombre des individus de *Micrococcus gonorrheæ* qui se trouvent dans le pus blennorragique, et les rapports qu'ils affectent avec les éléments cellulaires que ce liquide tient en suspension, varient dans de larges limites, suivant l'âge et la nature de l'écoulement. E. Legrain (4) a donné de très intéressants détails à ce sujet.

Au début, on trouve dans le pus beaucoup de cellules épithéliales parmi les globules de pus; 2 ou 3 p. 100 de ces derniers seulement contiennent des Gonocoques. Dès la fin du second jour, la pro-

(1) Himan van der Bergh, Ueber das Verhalten des Gonokoccus zur Grams'chen Färbe methoder (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 785).

(2) Steinschneider, Zur Differenzirung der Gonokokken (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1890, p. 533).

(3) Lanz, Ueber die Färbung des Trippersekretes mit Anilinfarbengemischen (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1898, nº 40).

(4) E. Legrain, Recherches sur les rapports qu'affecte le *Gonococcus* avec les éléments du pus blennorragique (*Arch. de phys.*, 1887, nº 6).

portion des globules de pus contenant des Bactéries augmente un peu ; certains en contiennent parfois un grand nombre, de dix à quatre-

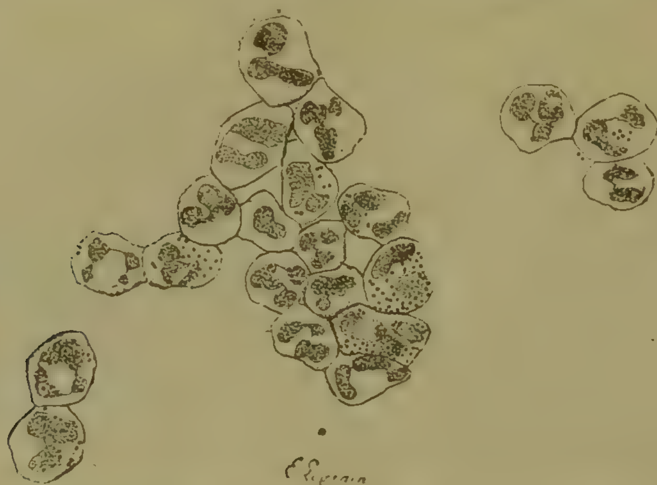


Fig. 187. — Blennorragie aiguë. Deuxième jour de l'écoulement. 600/1.

vingts ordinairement, jusqu'à cent vingt d'après Bouchard (fig. 187 et 188). La période aiguë s'accentue ; les cellules épithéliales disparaissent

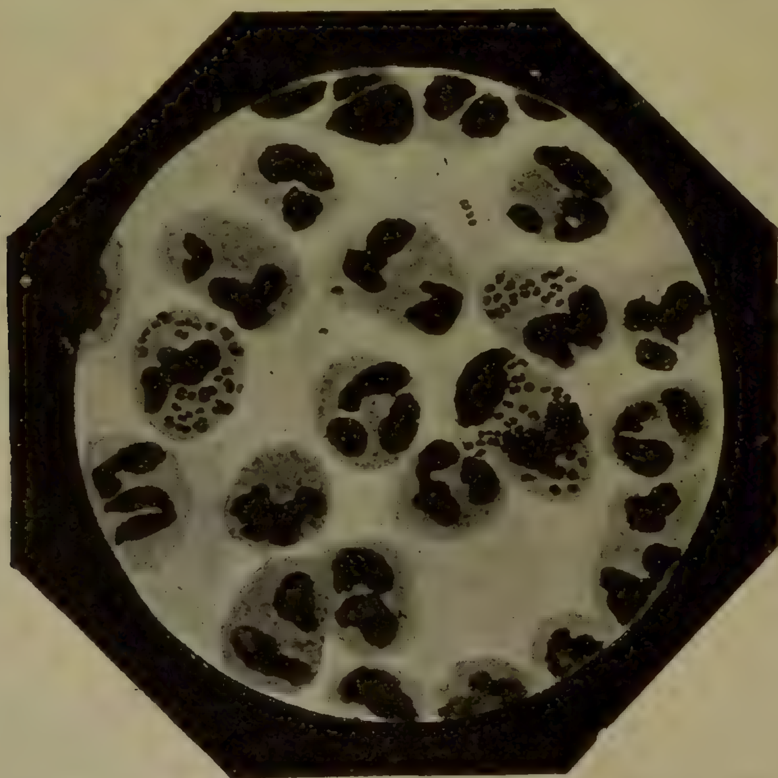


Fig. 188. — Pus blennorragique (d'après une photographie). 1200/1.

presque complètement. Le nombre des globules de pus envahis augmente beaucoup (un sur cinq ou six). A ce moment, le parasite ne prolifère plus dans l'épithélium, mais dans l'épaisseur de la muqueuse ; c'est pourquoi il est si difficile à atteindre. A la période subaiguë, les éléments épithéliaux redeviennent nombreux, mais présentent rarement

des *Gonocoques*; les globules de pus envahis sont, au contraire, en grand nombre (fig. 188). Enfin, quand l'écoulement passe à l'état chronique, la proportion des globules de pus se réduit beaucoup ; il est souvent difficile de trouver un globule de pus au milieu des éléments épithéliaux. Mais presque toutes les cellules épithéliales sont attaquées par la Bactérie ; certaines peuvent en contenir un nombre considérable (cent à cent vingt) ; le liquide en renferme un grand nombre ; très peu se trouvent dans les globules de pus. Dans un cas de rechute, au bout de cinq mois, les globules de pus avaient reparu dans l'écoulement, en grande quantité ; aucun ne contenait de Gonocoque ; les cellules épithéliales en étaient par contre surchargées. L'inflammation a quitté la profondeur pour revenir superficielle et ne se produit plus avec les mêmes caractères qu'à l'état aigu. Ces résultats sont d'une très grande importance en thérapeutique. Ils confirment, en effet, la règle de conduite à recommander : employer un antiseptique énergique au début, ou seulement après la période aiguë quand le parasite, revenu à la surface, est facile à atteindre.

Cultures. — Bumm a, le premier, réussi à cultiver cette espèce sur du sérum de sang humain, obtenu comme nous l'avons indiqué précédemment (p. 183) et maintenu de 33 à 37 degrés.

Le développement ne se fait pas au-dessous de 25° et plus du tout au-dessus de 39 degrés.

Bockart (1), Kreiss (2), Legrain en ont obtenu les premiers des cultures sur gélatine et gélose. L'emploi de milieux spéciaux, en particulier des milieux albuminés, a de beaucoup facilité la chose.

Comme matière d'ensemencement, on se sert surtout du pus blennorragique ; on procède de même avec tout autre produit de sécrétion ; avec le sang, il est nécessaire d'en ensemencer une notable quantité.

Il est à recommander avant tout, pour avoir des cultures pures, de prendre le pus des premiers jours ; plus tard, les cultures sont envahies par les Bactéries accessoires dont nous avons parlé. De plus, fait important, plus on rapproche du début de l'écoulement, plus les cultures s'obtiennent facilement et montrent de vitalité.

Lorsqu'on met en culture du pus de la deuxième ou troisième semaine, les colonies obtenues sont bien plus réduites et souvent incapables de se reproduire en seconde culture.

Cultures dans le bouillon. — Dans le bouillon peptonisé, Legrain a obtenu une culture minime, un louche très peu intense, à peine visible vers la fin du second jour à 35° ; puis tout s'arrête, le liquide s'éclaircit et il se forme un très fin dépôt grisâtre au fond du tube.

Le bouillon additionné de sérum ou de quelques gouttes de sang est un meilleur milieu ; la culture est plus abondante ; le dépôt est plus épais, visqueux.

Cultures sur sérum et milieux au sérum. — Ce sont les milieux au sérum, pur ou additionné de gélose, qui paraissent être les meilleurs pour la culture du *Gonocoque*. C'est ce qui résulte des recherches de

(1) Bockart, Beiträge zur Kenntniss der Gonococcus (*Monatshefte für prakt. Derm.*, V, 1886, n° 10).

(2) Kreiss, Beiträge zur Kenntniss der Gonococcus (*Wiener med. Wochenschr.*, 1885, n° 30).

Bumm d'abord, de Wertheim (1), de Kral (2), de Kiefer (3) et beaucoup d'autres.

Méthode de Bumm. — Bumm s'est servi de sérum humain. D'après lui, la culture apparaît sur ce milieu de dix-huit à vingt-quatre heures après l'ensemencement; la croissance est lente et s'arrête au bout de quelques jours. Après entier développement, elle forme un îlot à bords escarpés, à surface humide et brillante, ressemblant à une mince couche de vernis. Cette culture sur sérum, grisâtre, presque transparente, à surface lisse, ne dépasse pas 1 ou 2 millimètres de largeur.

Méthode de Wertheim. — D'après Wertheim, ce microbe se développerait aussi bien, sinon mieux, sur un milieu formé à parties égales de sérum humain et de gélose peptonisée à 2 p. 100. En étuve, vers 36°, on obtient des colonies semblables à celles développées sur sérum humain. Kiefer a remplacé, sans remarquer de différence dans les cultures, le sérum humain par du liquide ascitique beaucoup plus facile à obtenir; il recommande de prendre, pour le mélange, de la gélose glycérinée contenant 5 p. 100 de peptones.

Kral dit avoir obtenu de bons résultats en remplaçant, dans le milieu de Wertheim, le sérum humain par du sérum du sang de veau.

On réussit également fort bien en étendant simplement à la surface de gélose, à l'aide d'un fil de platine stérilisé, quelques gouttes de sang humain frais et aseptique, selon la méthode de Pfeiffer.

Le mélange de gélose et de sérum ou de liquide ascitique peut être placé dans des boîtes de Petri où il prend en gelée par refroidissement. On peut l'ensemencer en strie avec un fil de platine trempé dans du pus blennorragique, ou en surface en frottant le fil sur la surface de la gelée. En plaçant de telles plaques à l'étuve vers 36°-37°, on distingue, déjà après vingt-quatre heures, de petites colonies transparentes, finement granuleuses, à bords sinueux, qu'on peut facilement isoler et reporter sur des tubes contenant le même milieu de culture. On obtient ainsi des cultures pures de *Gonocoque*, ressemblant aux cultures sur sérum humain pur.

Méthode de Christmas. — Christmas trouve très avantageux, surtout pour obtenir des premières cultures, de se servir de sérum de lapin coagulé. Il suffit souvent de douze heures à l'étuve, à 36°, pour voir le sérum se couvrir de petites colonies transparentes qu'il est facile de repiquer.

Ces colonies sont diaphanes, à contours arrondis mais irréguliers, à centre un peu surélevé ; elles sont très visqueuses.

Comme on n'obtient que peu de ce sérum, on peut se servir, pour le coaguler, de tubes de petit diamètre; les résultats sont aussi bons.

Lorsque l'examen microscopique est douteux, l'emploi de cette méthode de culture peut permettre de déceler le Gonocoque.

Pour obtenir de notables quantités de cultures, Christmas (4) recommande de se servir du mélange de une partie de liquide d'ascite avec

(1) Wertheim, Zur Lehre von Gonorrheæ (*Prag. med. Wochenschr.*, 1891).

(2) Kral, Eine einfache Methode zur Isolierung des Gonococcus (*Arch. für Derm.*, XXVIII, 1894).

(3) Kiefer, Zur Kultur des Gonococcus Neisser (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1895, p. 332).

(4) Christmas, Le Gonocoque et sa toxine (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 613).

trois parties de bouillon peptonisé à 1 p. 100. L'addition d'une très petite quantité de glucose (1 p. 1000) lui a paru favorable. La réaction doit être légèrement alcaline.

Dans ce milieu, à 36°, le trouble est déjà bien visible en douze heures; après deux ou trois jours, il s'est formé un léger voile incomplet, blanchâtre, crémeux, qui laisse tomber de longs filaments. Au bout de sept à huit jours, le liquide s'éclaircit; on trouve au fond une couche blanchâtre, visqueuse, épaisse, très adhérente au vase.

Méthode de Wassermann. — Wassermann (1) recommande l'usage d'un milieu préparé de la façon suivante : 15 centimètres cubes de sérum de porc le plus possible privé d'hémoglobine sont mis dans un flacon d'Erlenmeyer, puis étendus de 30 à 35 centimètres cubes d'eau ; on ajoute ensuite 2 à 3 centimètres cubes de glycérine et, en dernier, 0gr,8 (2 p. 100) de nutrose. On agite pour bien mélanger et on fait bouillir à feu nu, sur un bec Bunsen, en agitant constamment. Le liquide s'éclaircit par l'ébullition et est ensuite stérilisé dans la vapeur, par le procédé ordinaire. L'addition de nutrose, mélange de caséine et de phosphate de soude, empêche la coagulation du sérum. Le milieu peut être employé liquide, ou additionné de gélose. On ajoute alors au produit la valeur de six à huit tubes de gélose peptonisée à 2 p. 100 maintenue liquide vers 50° ; on mélange, on coule dans des boîtes de Petri stérilisées et on laisse prendre par refroidissement.

On ensemence en strie à la surface et on met à l'étuve. Au bout de vingt à vingt-quatre heures, on voit se développer un plus ou moins grand nombre de petites colonies grisâtres, semblables à des gouttes de rosée, qui grandissent et, après vingt-quatre heures, ont les dimensions d'une petite tête d'épingle.

Méthode de Heiman. — Heiman (2) dit grand bien d'un milieu formé du mélange à deux tiers de gélose peptonisée à 1 p. 100 maintenue liquide, à 40°, de un tiers de sérum de pleurésie, stérilisé d'avance par chauffages répétés entre 65° et 70°. Le mélange doit être neutre ; si le sérum était alcalin, il faudrait employer une gélose légèrement acide.

Le plus souvent, le Gonocoque pousse seul sur ce milieu, qui donne des résultats positifs, alors que l'examen microscopique ou d'autres procédés de cultures n'avaient rien montré.

Cultures sur milieux a l'urine. — Steinschneider (3), puis Finger, Ghon et Schlagenhaufer (4) recommandent l'emploi de milieux à base d'urine (parties égales d'urine humaine et de gélose peptonisée ou une partie d'urine et deux parties de gélose).

Hammer (5) dit avoir obtenu de meilleurs résultats en employant de

(1) Wassermann, Ueber Gonokokkencultur und Gonokokkengift (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1897, nº 32, p. 685). — *Id.*, Weitere mittheilungen über Gonokokkencultur und Gonokokkengift (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVII, 1898, p. 298).

(2) Heiman, A clinical and bacteriological Study of the Gonococcus (*New York Med. Record*, 22 juin 1895). — *Id.*, A further Study of the biologie of the Gonococcus *New York Med. Record*, 19 décembre 1896).

(3) Steinschneider, Biologie der Gonokokken (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1895, p. 984).

(4) Finger, Ghon et Schlagenhaufer, Beiträge zur Biology des Gonococcus (*Centralbl. für Bakt.*, XVI, 1894, p. 350).

(5) Hammer, Beiträge zur Kultur des Gonococcus (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1895, p. 859).

l'urine fortement albumineuse que l'on peut stériliser par chauffages répétés ou par filtration.

Cultures sur gélatine. — Par inoculation en *piqûre* dans un tube de gélatine, on observe au bout de quelques jours, en maintenant la culture à 22°, une légère dépression à la surface. Vers le dixième jour, il s'est formé une cupule d'environ 1 centimètre de haut, constituée plutôt par un ramollissement de la gélatine que par une liquéfaction véritable. Ces cultures sont moins résistantes encore que celles faites sur gélose ; elles se reproduisent rarement en troisième génération.

Turro (1) recommande de prendre de la gélatine acide, de beaucoup préférable au milieu neutre ou faiblement alcalin. On l'obtient d'une acidité suffisante en n'ajoutant pas d'alcali au mélange de gélatine et de peptones. Les colonies y seraient plus blanches et ne liquéfieraient pas la gelée.

Cultures sur gélose. — En inoculant en *strie* un tube de gélose avec une petite quantité de pus et en le maintenant à 35°, on voit, après la vingtième heure, la gouttelette de pus devenir friable ; les globules de pus et les cellules épithéliales subissent une désagrégation ; les premiers contiennent presque tous des *Micrococcus* qui ont déjà pullulé. Ce n'est bientôt plus qu'un magma granuleux, parsemé de Microcoques. Il se forme autour, vers la trentième heure, une auréole mince, claire, transparente, qui s'élargit et atteint 3 à 4 millimètres à la fin du troisième jour. Au dixième jour, la culture mesure 1 centimètre de long environ ; elle a un aspect vernissé, luisant, plutôt sec qu'humide. Au bout de trois semaines, elle atteint 3 centimètres et montre sur ses bords de petits mamelons transparents ; puis elle reste stationnaire, se dessèche et se fendille. Cette culture n'est pas visqueuse, mais granuleuse et friable. Sa vitalité diminue assez rapidement ; on n'obtient plus rien de la quatrième culture.

Steinschneider (2) donne comme très favorable l'addition de jaune d'œuf à la gélose. Un jaune d'œuf est mélangé avec trois fois son poids d'eau stérilisée ; on agite fortement pour bien mélanger. A 20 grammes du produit, on ajoute 10 grammes d'une solution de phosphate de soude à 20 p. 100, puis trois fois le volume, c'est-à-dire environ 90 grammes, de gélose à 3 p. 100 ; on répartit en tubes et laisse solidifier.

Les colonies sont bien visibles après un jour ou deux de séjour à l'étuve.

Cultures sur pomme de terre. — Le Gonocoque ne s'y développe pas.

Propriétés biologiques.

Vitalité. — Cette espèce résiste excessivement peu aux conditions défavorables. L'exposition à une température de 0°, pendant quelques heures, de tubes convenablement ensemencés, a totalement empêché le développement des cultures. Du pus du premier jour, conservé vingt-quatre heures dans un tube à vaccin, est resté stérile. D'après ces résultats, il n'y aurait donc pas à songer, comme l'a fait

(1) Turro, Gonokokkenzüchtung und künstlicher Tripper (*Centralbl. für Bakt.*, XVI, 1894, p. 17).

(2) Steinschneider, Eidotteragar, ein Gonokokkennährboden (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1897, n° 18).

Lober (1), à pouvoir obtenir des cultures de Gonocoque de taches de pus blennorragique ayant séjourné quelque temps sur du linge. D'ailleurs, Aubert (2), dans des recherches bien conduites, a été aussi amené de son côté à repousser les conclusions de ce dernier auteur. On peut vraiment s'étonner de voir une Bactérie, jouissant d'une vitalité si peu considérable, occasionner une affection aussi tenace.

Le Gonocoque résiste très peu à la chaleur ; il est tué en quelques minutes à 55 degrés.

Il est également très sensible aux antiseptiques, même faibles.

Les ensemencements en série ne donnent souvent plus rien après quelques semaines, même avec les milieux les plus favorables ; beaucoup plus vite avec les milieux moins propices.

Virulence. — Les cultures fraîches sont virulentes, mais perdent rapidement leur activité ; la virulence du microbe est encore plus fragile que sa vitalité. Et encore, pour la constater, doit-on employer des cultures en milieux favorables. Cette virulence est due à des produits toxiques sécrétés par le Gonocoque produisant, chez les animaux d'expérience, des symptômes d'intoxication et d'inflammation.

Produits formés dans les cultures. — Éraud et Hugounenq (3) disent avoir obtenu, de leurs cultures, une diastase et une ptomaïne. Ces substances ont la propriété toute spéciale, la première surtout, de provoquer une inflammation du testicule pouvant aller jusqu'à la suppuration. Mais le microbe qu'ils ont cultivé n'était certainement pas le Gonocoque (Voy., p. 404, *M. orchitis*).

Christmas a isolé du milieu de culture et surtout des corps mêmes du Gonocoque une substance toxique particulière, toxine gonococcique ou gonotoxine, qui paraît bien être le principe auquel le microbe doit son activité. Il l'obtient, des cultures, en précipitant le liquide filtré sur papier par l'alcool fort ; il se produit un précipité albumineux qui englobe la toxine. C'est encore une substance diastasique qui supporte sans se modifier un chauffage de 50° à 70°, mais pas au-dessus. Nous verrons plus loin qu'elle a des propriétés pathogènes incontestables. La solution glycérineuse obtenue en évaporant le liquide de culture à 50°, au bain-marie, avec un dixième de glycérine, conserve longtemps ses propriétés à l'abri de la lumière. Ces résultats ont été confirmés par Wassermann.

Inoculation expérimentale.

Inoculation de cultures. — Pour l'*homme*, les cultures fraîches paraissent nettement être virulentes, mais perdent rapidement leur puissance infectieuse. Bokai (4) dit avoir déterminé une véritable blennorragie sur six sujets ayant l'urètre sain. Bockart, Bumm, Wertheim, Kiefer et surtout Finger, ont également réussi.

Les divers animaux d'expérience se montrent réfractaires. L'introduc-

(1) Lober, Contribution à l'étude du Gonocoque (*Bull. méd. du Nord*, juin 1887).

(2) Aubert, Le *Gonococcus* en médecine légale (*Lyon méd.*, 1888, n° 8).

(3) Éraud et Hugounenq, Recherches bactériologiques et cliniques sur la pathogénie de l'orchite blennorragique et de certaines orchites infectieuses (*Ann. de derm. et de syph.*, IV, 1893, p. 362).

(4) Bokai, Ueber den Contagium der acuten Blennorrhoe (*Allgem. med. Centralzeit.*, 1880, n° 74).

tion de pus blennorragique ou de culture fraîche dans l'urètre ou le sac conjonctival du lapin, du chien, du cobaye, l'injection sous-cutanée, l'injection dans le péritoine ou les articulations, ne donnent rien; le microbe ne semble pas pouvoir pulluler chez l'animal, peut-être à cause de la température qui est un peu supérieure à 39°, limite de la végétation du Gonocoque dans les cultures. Legrain a obtenu toutefois, chez le cobaye, une légère inflammation de sa conjonctive, avec sécrétion peu abondante contenant quelques globules de pus avec Gonocoque. Heller (1) dit avoir observé une pullulation sensible dans le sac conjonctival du lapin nouveau-né. Finger aurait produit une fois un petit abcès à la suite d'inoculation sous-cutanée de culture pure. Fonseca a produit, chez le lapin, une blennorragie atténuée par inoculation de cultures pures. Les effets obtenus par Nicolaysen (2) sont bien plutôt dus à la toxine qu'à une infection véritable. Ce sont là les seuls résultats obtenus dans un grand nombre d'expériences; ils ne peuvent guère permettre d'être bien affirmatif.

Inoculation de toxine. — La gonotoxine possède une action phlogogène très marquée. Le précipité alcoolique des cultures délayé dans un peu d'eau, ou la solution glycérineuse de Christmas, introduite à la dose de quelques gouttes dans la chambre antérieure de l'œil d'un lapin, déterminent une inflammation violente de la conjonctive avec hypopyon et ulcération de la cornée. Dans le tissu sous-cutané du lapin, à forte dose, une vingtaine de centimètres cubes, elle provoque une tuméfaction assez considérable, très douloureuse, qui donne quelquefois un abcès dû à une infection secondaire facilitée par la diminution de la résistance du tissu. Il survient une réaction générale, montrant bien que le lapin subit une intoxication, se manifestant par de la fièvre et une perte de poids considérable; l'animal peut même mourir cachectique. En injection intraveineuse, les mêmes symptômes se produisent, à plus faible dose et plus rapidement.

Dans la plèvre du lapin, l'émulsion détermine la formation d'un exsudat purulent très abondant; cet exsudat est toujours stérile.

Sur les muqueuses de l'urètre et du sac conjonctival du lapin et du cobaye, la gonotoxine paraît ne produire aucun effet.

Au contraire, chez un homme n'ayant eu aucune blennorragie, une injection intra-urétrale de 1 centimètre cube de cette émulsion a produit un écoulement purulent accompagné de douleurs à la miction, une véritable blennorragie dont le pus ne renfermait aucun Gonocoque. Christmas a obtenu les mêmes résultats à cinq reprises différentes à des intervalles d'un mois.

Les mêmes effets toxiques sont obtenus, et à un plus haut degré, chez les animaux, par les Gonocoques tués par la chaleur, ce qui démontre que la toxine est surtout contenue dans le corps des microbes; elle ne diffuse que lentement dans le milieu de culture.

Beaucoup de ces résultats ont été confirmés par Wassermann et Schottz (3).

(1) Heller, Ueber experimentelle Blennorrhoe im Agee neugeborener Kaninchen nebst Erfahrungen über die Cultur des Gonokokkus (*Charité-Annalen*, XXI, 1896).

(2) Nicolaysen, Zur Pathogenität und Giftigkeit des Gonococcus (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 305).

(3) Schottz, Biologie der Gonokokkus (*Arch. für Derm.*, XLIX, 1899).

Habitat et rôle étiologique.

Cette espèce est l'agent de la blennorragie ; elle se rencontre dans le pus des affections blennorragiques de l'urètre, de la vessie, du vagin, de l'utérus et du rectum. On la trouve également dans le pus de l'ophtalmie blennorragique et de l'ophtalmie des nouveau-nés.

Il n'est guère de complications de la blennorragie où le *Micrococcus gonorrheæ* n'ait été signalé; il paraît être la cause ordinaire de l'épididymite chez l'homme (1) ; chez la femme, bien des métrites, salpingites, etc., sont sous sa dépendance. Cependant, il est bon de remarquer que les auteurs de ces recherches n'ont donné souvent que des caractères trop peu précis pour que leur diagnose puisse être regardée comme certaine. Dans les observations un peu anciennes, ils passent en général sous silence les véritables caractères distinctifs du *Gonocoque*, situation dans le protoplasma des leucocytes, décoloration par la méthode de Gram. Il est encore aujourd'hui probable que bien des complications de la blennorragie sont sous la dépendance directe des microbes vulgaires de la suppuration. Il faut cependant faire une exception pour les petits abcès péri-urétraux (2), ayant leur point de départ dans les glandules urétrales ; ce qui confirme l'importance attribuée il y a longtemps déjà par Guiard (3) à l'inflammation de ces culs-de-sac dans la prolongation ou les répétitions de la blennorragie.

Il est bien difficile de distinguer du *Gonocoque* le Diplocoque que l'on rencontre le plus habituellement dans le pus des vulvites ou des vulvo-vaginites des petites filles, dont Vibert et Bordas (4) veulent faire une espèce particulière. Pour ma part, dans de nombreux examens que j'ai pu faire, j'ai le plus souvent décidé en faveur du *Gonocoque*, ainsi que beaucoup d'auteurs sérieux (5). Il me semble qu'il doit y avoir au moins grande probabilité quand on rencontre de nombreux globules de pus bondés de Diplocoques tout comme le pus blennorragique le plus caractéristique, Diplocoques ayant tous les caractères du Gonocoque, se décolorant par la méthode de Gram, se recolorant fortement en brun par la vésuvine comme le dit Steinschneider. Il faut aussi bien reconnaître que le coït ou la contagion directe n'est pas le seul mode possible d'infection gonococcique ; qu'il est possible d'incriminer un mode de transport plus indirect, tel que la souillure par des doigts, par des linges, par des poussières ou d'autres objets infectés, comme on l'observe pour bien d'autres affections microbiennes. D'un autre côté, il est aussi possible que l'on puisse, dans un tel cas, avoir affaire à l'un des autres microbes sans action bien marquée, comme ceux qui seront signalés plus loin comme pouvant accompagner le *Gonocoque*. Il en est, en effet,

(1) Macaigne et Vanverts, Étiologie et pathogénie des orchi-épididymites aiguës et en particulier des orchi-épididymites d'origine urétrale et non blennorragiques (*Ann. des mal. des org. génito-urin.*, 1896, n° 8).

(2) Celos Pellizari, Le Gonocoque dans les abcès péri-urétraux (*Giorn. ital. d. malat. venerei*, 1890).

(3) Guiard, Des urétrites latentes (*Ann. des mal. des org. génito-urin.*, février 1884).

(4) Vibert et Bordas, Étude sur le Gonocoque (*Méd. mod.*, 15 novembre 1890 et 1er janvier 1891).

(5) Veillon et Hallé, Étude bactériologique des vulvo-vaginites chez les petites filles, et du conduit vulvo-vaginal à l'état sain (*Arch. de méd. expér.*, 1896, p. 281). — Laborde, Thèse de Paris, 1896.

qui, comme lui, se décolorent par la méthode de Gram, et l'on sait que la propriété d'être inclus dans les globules de pus n'est pas spéciale au *Gonocoque*, que beaucoup de Bactéries pyogènes entre autres les Micro-coques de la suppuration, peuvent présenter la même particularité. Cependant les globules de pus sont d'habitude bien moins envahis que lorsqu'il s'agit du *Gonocoque*. Il résulte cependant de tout ceci que dans les cas d'examens médico-légaux, que visaient surtout Vibert et Bordas, il ne faut jamais se départir de la plus extrême prudence et, si l'on conclut en faveur du *Gonocoque*, bien faire ressortir que l'infection peut ne pas provenir forcément du contact intime avec un blennorragique, mais aussi être la conséquence d'une infection par transport banal et indirect du contage.

Le Gonocoque peut pénétrer dans la circulation générale et déterminer une véritable infection générale, la *gonococcie* (1), grave et parfois mortelle. Il est possible, à l'aide des cultures, de retrouver le microbe dans le sang. Des localisations diverses peuvent se produire. Le rhumatisme blennorragique est connu depuis longtemps; Hallier avait déjà signalé la présence de *Micrococcus* dans le sang d'individus atteints de cette affection ; mais il faut mettre en doute ces constatations au seul examen microscopique, les microbes étant très rares dans le sang. Les arthrites gonococciques sont communes ; le pus contient d'ordinaire en abondance le microbe que Petrone (2) et Kammerer (3) y ont les premiers signalés. L'endocardite gonococcique est plus rare et plus grave ; on trouve des Gonocoques dans les lésions cardiaques. Des phlegmons péri-articulaires ou péri-utérins peuvent être aussi dus au Gonocoque. La plupart du temps, la porte d'entrée est une affection blennorragique ordinaire ; d'autres fois, on ne trouve rien comme indication.

D'autres localisations intéressantes ont été signalées. Fraenkel (4) cite le Gonocoque comme pouvant occasionner sur la conjonctive des fausses membranes d'aspect diphtérique. Jesionek (5) l'a trouvé dans une stomatite, d'origine blennorragique il est vrai.

On n'a pas encore rencontré le Gonocoque en dehors de la blennorragie. Peut-il être un commensal ordinaire des organes génitaux de l'homme et de la femme ? C'est possible, mais rien n'est encore prouvé de ce côté ; les assertions de Straus, Pescione et Eraud ne sont pas du tout convaincantes. Cela pourrait expliquer les quelques faits cités de blennorragie développée sous la seule influence de l'irritation ; mais on sait quelle créance on peut apporter d'ordinaire à de simples affirmations de malades (6).

(1) Ghon et Schlagenhaufer, Un cas de gonococcie mortelle (*Wiener klin. Wochenschr.*, 1898, n° 24). — Hallé, Infection gonococcique généralisée (*Ann. de gyn.*, septembre 1898, p. 179). — Colombini, Bakteriologische und experimentelle Untersuchungen über einen merkwürdigen Fall von allgemeiner gonorrhoischer Infektion (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 955).

(2) Petrone, Sulla natura dell' artrite blennorhagice (*Rivista clinica*, 1883).

(3) Kammerer, Ueber gonorrheischen Gelenkentzündung (*Centralbl. für Chir.*, 1884, n° 4).

(4) Fraenkel, Der Gonokokkus als Erreger diphterischer Entzündungen der Augenbindehaut (*Hygienische Rundschau*, 1898, n° 7).

(5) Jesionek, *Deutsches Arch. für klin. Med.*, LXI, p. 182.

(6) Straus, Présence du Gonocoque de Neisser dans un écoulement urétral survenu sans rapports sexuels (*Arch. de méd. expér.*, 1891).

D'un autre côté, chez l'homme, il est des urétrites dues à d'autres agents microbiens et même des urétrites d'origine amicrobienne (1).

Le Gonocoque n'a jamais été rencontré chez les animaux ; les urétrites, fréquentes chez certains d'entre eux sont sous la dépendance d'autres microbes.

Recherche et diagnostic.

Il importe donc beaucoup de pouvoir établir un diagnostic différentiel bien assis du Gonocoque et des autres microbes qui peuvent se rencontrer dans les mêmes circonstances.

La forme en Diplocoques, et surtout en Diplocoques asymétriques, est tout d'abord d'un grand secours en permettant d'éliminer une bonne partie des espèces de forme nettement différente. Les autres en Diplocoques, dont l'étude va suivre, ne se décolorent pas par la méthode de Gram, sauf une espèce, encore trop peu connue, signalée dans le mucus vaginal. Toutes ces dernières espèces ne se rencontrent pas dans l'intérieur des globules de pus, ou très rarement, et jamais en très grand nombre comme le Gonocoque.

Pour prendre des matériaux d'examen, lorsqu'il s'agit d'urétrite aiguë, il faut désinfecter le méat et faire sourdre par pression d'arrière en avant une goutte de pus que l'on recueille avec le fil de platine stérilisé.

On opère de même pour une urétrite chronique lorsqu'il existe un écoulement. Lorsque tout écoulement fait défaut, on fait uriner l'individu dans un vase stérilisé et on recherche dans l'urine le filament muqueux qui se produit d'ordinaire. Il est bon que le malade n'ait pas uriné depuis plusieurs heures, le filament est plus gros; il vaut mieux encore prendre l'urine du matin. On recherche le *Gonocoque* dans le filament par la double coloration de Steinschneider. En cas de doute, on peut, par une instillation de nitrate d'argent ou de sublimé, déterminer une légère irritation de la muqueuse ; sous cette influence, le *Gonocoque* se remet un peu à pulluler et devient plus facile à déceler.

La recherche dans le sang ne peut se faire qu'au moyen des cultures. Il est à recommander de faire de larges ensemencements à la surface des milieux, le microbe étant d'ordinaire très peu abondant dans le sang.

Le tableau suivant, emprunté à la thèse de Bosc (2), peut rendre de bons services au point de vue de la diagnose :

I. — Cultures sur gélose jaunes.......	Liquéfiant la gélatine.	Reste coloré par le Gram.	*Micrococcus subflavus* de Bumm (p. 400).
		Décoloré par le Gram.	*Diplocoque jaune-citrin* de Steinschneider (p. 401).
	Ne liquéfiant pas la gélatine......		*Diplocoque jaune non liquéfiant* de E. Legrain (p. 401).
			Micrococcus citreus conglomeratus de Bumm (p. 401).

(1) Guiard, Des urétrites non gonococciques (*Ann. des mal. des org. génito-urin.*, 1897, p. 449).

(2) Bosc, Le Gonocoque. Thèse de Montpellier, 1893-1894.

- II. — Cultures sur gélose à centre jaunâtre à bords blancs ou grisâtres. — Liquéfiant la gélatine..................
  - *Diplocoque blanc jaunâtre* de Legrain (p. 401).
  - *Microcoque orangé.*
  - *Micrococcus ochroleucus* de Prove (p. 402).
- III. — Cultures sur gélose blanches ou grisâtres..........
  - Ne liquéfiant pas la gélatine.
    - Restent colorés par le Gram.
      - *Micrococcus lacteus faviformis* de Bumm (p. 403).
      - *Diplocoque blanc grisâtre* de Legrain (p. 403).
    - Décolorés par le Gram.
      - *Microcoque blanc grisâtre* de Steinschneider (p. 404).
      - *Micrococcus albicans amplus* de Bumm (p. 404).
  - Liquéfiant la gélatine.
    - Reste coloré par le Gram.
      - *Diplocoque à colonies foliacées* de Legrain (p. 404).
    - Décolorés par le Gram.
      - *Diplocoque de la vulvo-vaginite* de Vibert et Bordas (p. 397).
      - *Orchiocoque* de Éraud et Hugounenq (p. 404).
      - *Gonocoque* de Neisser.

On trouvera ci-après la description des principales espèces qu'on peut avoir intérêt à bien savoir distinguer du *Gonocoque*. Il faut cependant se souvenir, pour appliquer ces données, que la liquéfaction de la gélatine par le *Gonocoque* peut être lente et imparfaite.

MICROCOCCUS SUBFLAVUS Bumm.

(*Diplococcus jaune blanc.*)

Il est fréquent dans le mucus vaginal et les lochies. Ce sont des Diplocoques de 2 μ à 2,3 μ de plus grand diamètre, assez mobiles, très semblables d'aspect au *Micrococcus gonorrheæ* ; ils *restent colorés* après traitement par la solution de Gram, et se distinguent facilement, en outre, par les cultures. On doit lui rapporter le *Diplocoque jaune orangé* de Steinschneider.

On en obtient souvent des cultures pures en ensemençant directement de la gélose avec du pus blennorragique.

Le *bouillon* se trouble au bout de seize heures ; il se forme un dépôt jaunâtre au fond du tube.

Sur *plaques de gélatine*, vers la fin du quatrième jour, il forme de petites colonies circulaires, jaunâtres, granuleuses. La gélatine se ramollit, puis se fluidifie autour d'elles.

Sur *gélatine*, en *piqûre*, il donne, en deux jours, des points blanchâtres qui deviennent gris, puis jaunâtres et enfin jaune d'ocre. La culture ne pénètre pas dans la piqûre ou la strie ; après quelque temps, elle est entourée d'une zone de liquéfaction. Sur *gélose*, la culture, d'abord grise et transparente, devient jaune opaque, puis de couleur jaune ocreux et enfin se décolore en vieillissant. Sur *pomme de terre*, il ne se forme qu'une mince bande grisâtre, peu appréciable. Le *sérum* serait liquéfié.

Bumm l'a inoculé sans résultat dans l'urètre et le vagin. Par inoculation sous-cutanée au lapin, il a obtenu un gros abcès, renfermant des Diplocoques en quantité. Ce même observateur l'a retrouvé depuis dans l'urine d'une accouchée souffrant d'un catarrhe vésical, dans le contenu des vésicules de pemphigus d'un nouveau-né et dans le pus d'un abcès du sein. C'est peut-être une espèce pathogène ; les cultures, toutefois, ne paraissent avoir aucune action pyogène ; Legrain n'a rien obtenu chez le cobaye, en inoculation sous-cutanée.

MICROCOCCUS JAUNE-CITRIN DE STEINSCHNEIDER.

Les éléments sont en Diplocoques.

Comme le Gonocoque, il *se décolore* par la méthode de Gram. Il s'en distingue toutefois facilement par les cultures. Celles sur *gélose* sont assez épaisses et d'un beau jaune-citron. La *gélatine* serait liquéfiée ; le dépôt présenterait la même nuance jaune.

MICROCOCCUS JAUNE NON LIQUÉFIANT DE L'URÈTRE LEGRAIN.

Rare dans le pus blennorragique.

Ce sont des Diplocoques à éléments asymétriques, de 1,5 μ à 2 μ de long sur 1 μ à 1,2 μ de large ; la dessiccation les rétracte beaucoup.

Sur *gélatine*, en *piqûre*, on obtient une culture en clou d'un jaune orangé foncé.

Sur *gélose*, il se forme une large bande d'un beau jaune de chrome.

Sur *pomme de terre*, c'est une culture mamelonnée de même nuance.

C'est un microbe qui paraît être tout à fait inoffensif.

MICROCOCCUS CITREUS CONGLOMERATUS BUMM.

Bumm l'a isolé du pus blennorragique et peut-être de poussières de l'air. Legrain l'a rencontré dans l'urètre d'un chien. Les éléments, qui mesurent à peu près 1 μ, sont réunis en Diplocoques souvent accolés par deux. Ils sont très semblables comme forme aux Gonocoques, et *restent colorés* par la méthode de Gram.

Sur *gélatine*, il forme de longues colonies d'un jaune-citron, à surface d'abord humide et brillante, puis fendillée et écailleuse, ne liquéfiant pas la gelée. Sur *gélose*, il donne une luxuriante culture jaune-citron, non visqueuse.

Sur *pomme de terre*, la culture est épaisse et de même nuance.

Il semble n'avoir aucune action pathogène.

MICROCOCCUS BLANC JAUNATRE DE L'URÈTRE LEGRAIN.

Diplocoques à éléments asymétriques, mesurant dans leur grand axe de 1,4 μ à 1,8 μ.

Sur *gélatine*, en *strie*, on voit, après quarante-huit heures, une bande mince, d'un blanc crémeux. Après douze jours, la bande est plus épaisse et s'enfonce un peu dans la gélatine. C'est le seul indice d'un commencement de liquéfaction qui ne se prononce pas plus et se perd du reste dès la deuxième culture.

Sur *gélose*, il se forme une bande blanc grisâtre assez large, qui devient jaunâtre au centre.

Sur *pomme de terre*, au bout de huit à dix jours, on observe une bande assez large, jaune pâle.

Cette espèce ne possède aucune action pathogène.

MICROCOCCUS OCHROLEUCUS PROVE.

Cette espèce a été isolée de l'urine par Prove (1), qui l'a décrite avec quelques détails. Legrain (2) l'a rencontrée dans du pus d'urétrite et dans le pus d'un bubon chancrelleux ouvert aseptiquement.

Les cellules sphériques, mesurant de 0,5 μ à 0,8 μ, sont isolées, réunies par deux en Diplocoques, ou plus fréquemment disposées en chapelets de 4, 8, 12 éléments ; certains gros éléments atteignent 1,6 μ à 2,8 μ. Les coccus isolés, les Diplocoques et les chaînettes sont animés d'un mouvement assez vif.

En culture sur *plaques de gélatine*, les colonies apparaissent dès la dix-huitième heure, sous forme de très petits points ; après quatre ou cinq jours, elles sont nettement circulaires, granuleuses, d'un gris jaunâtre, prenant dans la suite une teinte verdâtre. Puis la gélatine se ramollit lentement et se liquéfie après deux ou trois semaines. Les colonies surnagent le liquide clair.

En *piqûre sur gélatine*, la culture s'étale et donne une mince membrane dont le centre se colore en jaune-soufre, tandis que les bords restent blanchâtres. Après un temps assez long, la gélatine se ramollit, devient visqueuse, prend une réaction fortement alcaline et se colore en jaune clair. Les vieilles cultures exhalent une odeur sulfureuse pénétrante. Les cultures sur *gélose* sont d'un blanc sale, crémeuses, avec une strie centrale jaune.

Sur *pomme de terre*, on obtient une culture mamelonnée, tachée de jaune.

Du *lait* montre au bout de cinq à six jours une coloration jaune de toute la surface, plus marquée aux points où s'amasse la crème.

La matière colorante est insoluble dans l'eau et soluble dans l'alcool ; la solution alcoolique est jaune avec une très légère teinte verte. A l'examen spectroscopique, on observe un léger trouble depuis la ligne D et un assombrissement plus fort sur la ligne F. Les alcalis sont sans action sur la solution colorée ; la couleur ne reparaît ni par une neutralisation ni par un excès d'alcali.

D'après Prove, il se formerait de véritables spores dans les cultures maintenues à 36°, au bout de cinq à six jours. Les coccus se gonflent jusqu'à atteindre un volume double ; il se forme dans l'intérieur un corps réfringent de 1,6 μ à 1,78 μ de long, possédant les caractères des spores. Ces cultures, entre autres caractères, fertilisent encore un nouveau milieu après avoir été soumises, pendant une demi-heure, à une température de 100 degrés.

(1) PROVE, Micrococcus ochroleucus, eine neue chromogene Spaltpilzform (*Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, IV, 3e p., 409, 1887).

(2) E. LEGRAIN, Les Microbes des écoulements de l'urètre. Thèse de Nancy, 1888.

MICROCOCCUS LACTEUS FAVIFORMIS Bumm.

Bumm (1) donne cette espèce comme fréquente dans le mucus vaginal normal ; il l'a retrouvée, plus tard, dans le mucus utérin et dans les crachats. Legrain l'a souvent isolée des sécrétions vaginales.

Ce sont des Diplocoques, souvent isolés ou réunis par deux ou en tétrades, mesurant 1,5 μ, 2,2 μ, quelquefois 2,5 μ de plus grande longueur. Ils *restent colorés* par la méthode de Gram. Ils se cultivent facilement sur tous les milieux, à la température ordinaire, mais mieux vers 37 degrés.

Sur *plaques de gélatine*, les colonies sont petites, grisâtres, très régulièrement circulaires; l'intérieur forme un fin réseau limitant des alvéoles tous égaux entre eux. La *gélatine* n'est pas liquéfiée.

Sur *gélatine*, en *strie*, on voit se former, après un ou deux jours, de petits points blancs qui se réunissent plus tard en plaques d'un blanc de lait. En *piqûre*, on observe de petites colonies globuleuses d'un blanc grisâtre tout le long du trajet. Les cultures réussissent également sur gélatine alcaline ou neutre.

Le *bouillon* peut déjà être troublé après quatre heures.

Sur *gélose*, il se forme une bande d'un blanc grisâtre.

Sur *pomme de terre*, la culture ressemble à celle sur gélose.

Les caractères des éléments des cultures sont les mêmes que ceux de l'organisme. Tous se colorent fortement à l'aide des couleurs d'aniline et ne se décolorent pas par la méthode de Gram. A l'état frais, les coccus paraissent sphériques, réfringents, possédant un mouvement tremblotant. En préparation, les Diplocoques offrent la forme asymétrique signalée déjà pour le *Micrococcus gonorrheæ*, avec le côté concave plus marqué; en outre, les éléments d'un même couple sont plus rapprochés que dans cette dernière espèce. Lorsqu'on prépare, dans une goutte de liquide, une parcelle de culture pour l'examen microscopique, les Diplocoques isolés se disposent sur la lamelle, l'un contre l'autre, en une seule couche ; l'aspect de la figure obtenue rappelle alors celui d'un gâteau de miel avec ses nombreux alvéoles. C'est de cette dernière particularité qu'a été tiré le nom de l'espèce.

Les cultures ne possèdent aucune propriété infectieuse. L'espèce ne semble avoir aucun rapport avec la qualité ou quantité de la sécrétion où on la rencontre.

MICROCOCCUS BLANC GRISATRE DE L'URÈTRE Legrain.

Les éléments sont le plus souvent ronds, rarement ovoïdes. Ils mesurent en moyenne 0,8 μ; certains peuvent atteindre presque 2 μ. Ils *restent colorés* par la méthode de Gram.

Sur *gélatine*, en *piqûre*, la colonie est très lente à venir; elle reste très minime, formée de petites granulations d'un blanc grisâtre, même après un mois.

Sur *gélose*, on obtient une bande grisâtre, peu épaisse, non visqueuse.

Sur *pomme de terre*, bande grise, uniforme après une quinzaine de jours.

Cette espèce ne possède aucune action pathogène.

(1) Bumm, Beiträge zur Kenntniss der Gonorrhoœ der weiblichen Genitalien (*Arch. für Gynæk*, XXII, 1884, p. 327).

MICROCOCCUS BLANC GRISATRE de Steinschneider.

Il ne se distingue du précédent qu'en ce qu'il se *décolore* par la méthode de Gram.

MICROCOCCUS ALBICANS AMPLUS Bumm.

Bumm l'a isolé du mucus vaginal où il le donne comme rare (c'est la deuxième espèce du mémoire précité). Legrain l'a rencontré dans un cas d'urétrite simple. Ce sont des Diplocoques isolés, ou quelquefois réunis par trois ou quatre, mobiles. Leur forme est celle du Gonocoque, mais ils sont manifestement plus gros; un couple mesure de 3 μ à 3,5 μ d'un pôle à l'autre; les dimensions sont moindres dans les cultures jeunes. Ils *restent colorés* par la méthode de Gram.

Cette espèce croît facilement sur *gélatine*, acide ou neutre, à la température ordinaire; il forme, sur le milieu, une bande grisâtre un peu visqueuse. Il ne doit pas se produire de liquéfaction.

Sur *gélose*, la culture est rapide vers 35° ; en quarante-huit heures, il s'y forme une bande grisâtre, molle, qui s'étend assez en surface; la culture devient visqueuse en vieillissant.

C'est une espèce tout à fait inoffensive.

Sur *pomme de terre*, on obtient en quelques jours une large bande blanche.

Dans le *bouillon*, il se produit un dépôt blanchâtre assez épais; le liquide est long à s'éclaircir.

MICROCOCCUS BLANC A COLONIES FOLIACÉES Legrain.

Rare dans le pus urétral.

Ce sont des Diplocoques formant des amas de 10 à 15 ou de courtes chaînettes de 6 à 10 éléments. Les éléments sont sphériques et mesurent de 0,5 μ à 0,9 μ de diamètre. Ils *restent colorés* par la méthode de Gram.

Sur *plaques de gélatine*, les premières cultures sont caractéristiques. Ce sont des colonies circulaires qui s'entourent bientôt d'une collerette frangée. La colonie peut atteindre plusieurs centimètres de diamètre en huit à dix jours. La gélatine se liquéfie.

Sur *gélatine*, en *piqûre*, il se forme d'abord une petite culture blanche en clou; puis la gélatine se creuse assez profondément sans qu'il y ait liquéfaction véritable.

Sur *gélose*, en quatre ou cinq jours, on obtient une bande blanche, assez épaisse.

Sur *pomme de terre*, bande blanc grisâtre.

Cette espèce n'a manifesté aucune action pathogène.

MICROCOCCUS ORCHITIS.

(*Orchiocoque d'Éraud et Hugounenq.*)

Éraud et Hugounenq (1) ont décrit sous le nom d'*Orchiocoque* un

(1) Éraud et Hugounenq, Recherches bactériologiques et cliniques sur la pathogénie de l'orchite blennorragique et de certaines orchites infectieuses (*Ann. de derm. et de syph.*, IV, 1893, p. 362).

Diplocoque voisin comme forme, comme aspect, comme propriétés, du *Gonocoque de Neisser*, qu'ils ont d'abord isolé de la sérosité vaginale de blennorragiens atteints d'épididymite, et qu'ils ont ensuite retrouvé dans l'urètre ou dans l'urine d'individus vierges de toute blennorragie.

Les dimensions sont un peu plus fortes que celles du Gonocoque; les éléments de cet *Orchiocoque* atteindraient 1 μ dans leur grand diamètre ; comme le premier, il se *décolore* par la méthode de Gram.

Ce sont surtout les cultures qui différencieraient ces deux microbes. L'*Orchiocoque* pousse sur tous les milieux, même sur gélatine, avec abondance, alors que le *Gonocoque* ne donne qu'assez difficilement des cultures et surtout sur des milieux spéciaux.

En injection sous-cutanée, chez le cobaye et chez le chien, les cultures ne produisent pas de suppuration; injectées dans le testicule, chez le chien, elles déterminent de l'orchite.

Les mêmes auteurs ont retrouvé un Diplocoque bien voisin, sinon identique, dans l'orchite des oreillons.

D'après eux, l'orchite ou l'épididymite blennorragiques ne seraient pas sous la dépendance directe de la blennorragie, mais bien produites par un saprophyte à qui l'infection gonococcique crée un milieu favorable et permet de devenir envahissant. Il en serait de même pour l'orchite ourlienne.

MICROCOCCUS ALBICANS TARDISSIMUS Bumm.

Ce sont des Diplocoques très semblables à ceux du *Micrococcus gonorrheæ*, que Bumm a rencontrés dans le pus d'écoulements urétraux. Ils *ne se décolorent pas* par la méthode de Gram.

Cette espèce croît très lentement sur la gélatine, *sans la liquéfier* ; en strie, on n'obtient, après plusieurs semaines, qu'une mince bande de 1 millimètre. Sur *sérum*, à 37°, il se forme des points blanchâtres en deux ou trois jours ; ils grandissent lentement et donnent de minces taches humides, grises, à contours sinueux.

Les inoculations n'ont donné aucun résultat.

MICROCOCCUS MELITENSIS Bruce.

(*Microcoque de la fièvre de Malte.*)

Il a été découvert par Bruce (1) à Malte, dans les organes, rate surtout et aussi foie et reins, de malades atteints d'une forme de fièvre fréquente à Malte et en bien des points des rivages et des îles de la Méditerranée, nommée pour cette raison *fièvre de Malte* ou *fièvre méditerranéenne*. D'après Bruce, on ne le rencontre jamais dans le sang ; Hughes (2) dit l'avoir retiré du sang d'un singe mort après inoculation de cultures.

C'est un petit coccus rond ou légèrement ovale, presque toujours isolé, rarement en diplocoques, jamais en chaînettes, toujours immobile.

(1) Bruce, Note on the discovery of a micro-organism in Malta fever (*The Practitioner*, sept. 1887). — *Id.*, Sur une nouvelle forme de fièvre rencontrée sur les bords de la Méditerranée (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 289).

(2) Hughes, Etiology of Mediterranean fevers (*The Lancet*, 3 déc. 1892). — *Id.*, Note on the endemic fever of the Mediterranean (*Ibid.*, 18 avril 1896, p. 1063).

Il se colore bien par les solutions aqueuses de violet de gentiane et *se décolore* par la méthode de Gram.

Il se cultive facilement sur les milieux habituels. La matière d'ensemencement doit surtout être prise dans la rate.

Dans le *bouillon* peptonisé, à 37°, on n'observe rien les premiers jours, puis le liquide se trouble uniformément, sans former de voile.

La *gélose* au bouillon avec 0,5 p. 100 de peptone est le meilleur milieu. En inoculant en strie, on voit seulement après plusieurs jours, à 37°, apparaître de petites colonies blanches qui grandissent lentement et ne dépassent pas 2 ou 3 millimètres. Leur coloration est d'un blanc laiteux, à centre plus opaque.

Sur *gélatine* à 10 p. 100 maintenue à 22°, en piqûre, le développement est très faible ou nul. Après un mois, dans les meilleures conditions, on ne trouve à la surface qu'une petite colonie blanche et presque rien dans le trajet de la piqûre.

Sur *pomme de terre*, à 37°, rien ne se développe.

On n'obtient aucun résultat en inoculant des cultures sous la peau des souris, des cobayes et des lapins. On réussit à donner au singe une affection semblable à celle de l'homme ; quelques-uns des animaux inoculés guérissent après une maladie plus ou moins grave ; d'autres meurent avec les mêmes symptômes que l'homme en montrant des microbes spécifiques en abondance dans les organes.

Des essais de sérothérapie ont été tentés par Albridge (1) avec du sérum d'individus guéris.

MICROCOCCUS HÆMATODES Babès.

Babès (2) l'a isolé des sueurs fétides de l'aisselle, qui laissent sur le linge une tache rougeâtre, variant du rouge-brique pâle au rouge-sang. Le dépôt, pris sur le linge, est formé en grande partie de *Micrococcus* sphériques ou ovoïdes, mesurant en moyenne 1 μ de long sur 0,8 μ de large. Ils sont unis en petites Zooglées par une sorte de gelée transparente, rougeâtre. On les retrouve sur les poils des aisselles, chez les personnes atteintes de cette affection ; ils en entourent la base d'une gaine rougeâtre et les rendent durs et fragiles.

Ces Bactéries se cultivent très bien sur des blancs d'œufs cuits, à 37 degrés. Elles y forment des Zooglées d'un rouge-sang. La matière colorante semble identique à celle du *Micrococcus prodigiosus*.

MICROCOCCUS FŒTIDUS Rosenbach.

Rosenbach (3) a isolé d'une carie dentaire une Bactérie à éléments très petits, ovales, se colorant difficilement.

C'est une espèce anaérobie, qui ne se développe que dans le fond des tubes de gélose, inoculés par une piqûre profonde. La culture s'accompagne d'une production de gaz d'odeur fétide.

(1) Albridge, Note on the serum-reaction of Mediterranean fever and its treatment by antitoxic Plasma (*The Lancet*, 1898, n° 21, p. 1394).

(2) Babès, Von rothen Schweiss (*Centralbl. für die med. Wissensch.*, 1882, n° 19).

(3) Rosenbach, Mikroorganismen bei der Wundinfectionskrankheiten. Wiesbaden, 1884.

MICROCOCCUS DECALVANS Thin.

Thin (1) a désigné sous ce nom des coccus sphériques de 1 μ de diamètre, qu'il a observés dans la gaine interne de la racine du cheveu, dans des cas de pelade, et qu'il considère comme la cause de cette affection. Sehlen (2) serait arrivé à les cultiver et aurait pu déterminer chez les rats, à la suite de leur inoculation, une maladie cutanée à symptômes identiques. Dans deux cas de pelade examinés dans ce but, j'ai observé, surtout dans l'intérieur des cellules de la gaine de la racine du cheveu, de très nombreux Microcoques parfaitement sphériques, d'un diamètre constant de 0,2 μ à 0,3 μ. Ils existaient en très grande abondance dans la gaine vitreuse qui suit le cheveu malade à l'épilation. Ils diffèrent certainement des *Microsporon* décrits par Malassez (3). Toutefois, Bizzozero (4) et Bordoni (5) considèrent le coccus observé par Sehlen comme une des nombreuses espèces qui se rencontrent à l'état normal sur la peau (6).

Vaillard et Vincent (7) ont isolé de différents cas de *pseudo-pelade en plaques* ou *en aires*, un *Micrococcus* qui paraît être réellement l'agent spécifique de cette affection contagieuse. En étudiant au microscope, après coloration par le procédé de Gram, des cheveux prélevés au pourtour de la région alopéciée, on voit d'après eux, à leur périphérie, jamais dans leur épaisseur, des petits coccus isolés, réunis par deux ou disposés en amas. C'est surtout la gaine épithéliale du follicule, qui s'arrache souvent en partie avec le cheveu, qui en montre en grand nombre; ils peuvent même former une véritable gaine autour de la racine du cheveu malade. Sur une coupe de peau malade, colorée par le même procédé, tous les follicules contiennent des amas parfois considérables de ces petits Micrococques sphériques, d'environ 1 μ de diamètre. On en obtient facilement des cultures, en ensemençant du produit de raclage des couches internes de lambeaux de peau malade excisés, ou du sang de ces parties, soigneusement lavées extérieurement avec du savon, lotionnées ensuite au sublimé et à l'alcool absolu.

En ensemençant des tubes de gélose, on voit, déjà au bout de vingt-quatre heures à 37°, apparaître de petites colonies blanches circulaires, saillantes, qui atteignent en quelques jours les dimensions d'une lentille, puis restent stationnaires.

Le bouillon se trouble en quelques jours, puis abandonne un dépôt blanchâtre.

Dans la gélatine, l'ensemencement produit après deux ou trois jours un entonnoir de liquéfaction qui atteint les parois du tube vers le cinquième jour.

(1) Thin, Alopecia areata und Bacterium decalvans (*Monatshefte für prakt. Dermat.*, 1885, n° 28).

(2) Sehlen, Zur Aetiologie der Alopecia areata (*Virchow's Arch.*, XCIX, 1885, p. 527).

(3) Malassez, *Arch. de phys.*, 1874.

(4) Bizzozero, *Virchow's Arch.*, XCVIII, 1884, p. 451.

(5) Bordoni, Ueber die biologischen Eigenschaften der normalen Hautmicrophyten (*Fortschr. der Med.*, 1886, n° 5).

(6) Sabouraud, Des origines de la pelade (*Soc. de derm. et syph.*, 11 juin 1896).

(7) Vaillard et Vincent, Sur une pseudo-pelade de nature microbienne (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1890, p. 446).

Cette Bactérie se cultive mal sur pomme de terre, en donnant une mince couche grisâtre.

Dans tous les milieux de culture, on perçoit une odeur fade.

C'est un anaérobie facultatif ; très peu exigeante en oxygène, l'espèce se cultive dans le vide, quoique moins bien.

En injectant sous la peau de souris blanches des doses d'un quart de centimètre cube de cultures dans le bouillon, les auteurs ont déterminé la mort en quarante-huit heures sans lésions apparentes ; le sang, la rate, les autres viscères contenaient des microbes en abondance. Les cobayes et les lapins ne ressentent rien d'injections de 1 centimètre cube de ces mêmes cultures.

En frictionnant avec du produit de culture de la peau rasée de cobayes, de lapins et de chiens, on observe la formation d'une plaque de pseudo-pelade identique à celles de l'homme.

Sabouraud (1) décrit dans la *pelade décalvante* chronique, un petit coccus de 1 μ de diamètre, qui *reste coloré* par la méthode de Gram, et que l'on rencontre en amas très denses dans l'utricule peladique. Il n'en a pas obtenu de cultures, et ne peut pas être tout à fait affirmatif sur le rôle joué par ce microbe dans l'affection.

Dans les cas où, chez l'homme, les plaques sont rouges et enflammées, on trouve en association avec ce microbe du *Staphylocoque doré* ou du *Streptocoque pyogène*. On peut obtenir des lésions semblables en mélangeant des cultures de ces espèces.

MICROCOCCUS PSITTACI Wolff.

Cette espèce détermine, chez les perroquets, une affection pyémique mortelle, qui fait périr une grande partie de ces oiseaux importés en Europe, sévissant surtout sur ceux qui viennent des côtes de Guinée. D'après Eberth (2) et Wolff (3), qui l'ont étudiée, la maladie débute par une diminution rapide de l'appétit ; les animaux deviennent tristes, languissants, laissent traîner leurs ailes. Ils sont pris de diarrhée muqueuse, accompagnée parfois de vomissements de matière jaune verdâtre ; puis surviennent des convulsions qui se terminent par la mort. A l'autopsie, on trouve le foie, la rate et les reins d'un rouge noirâtre, gorgés de sang ; le foie surtout présente de nombreuses petites taches grises ; la muqueuse de l'intestin est pâle et parsemée de macules grises. Le sang renferme une grande quantité de coccus très petits, isolés, ne se colorant que faiblement par le violet de méthyle. Dans les coupes des organes cités, les capillaires et les veines d'assez gros calibre sont remplis d'amas de Micrococques ; les capillaires des villosités intestinales en sont bondés.

Ces *Micrococcus* sont plus petits que ceux des affections pyémiques de l'homme. Eberth leur trouve une ressemblance avec ceux qu'il a rencontrés dans un cas de pharyngite croupale du poulet.

A rapprocher peut-être des courts *Bacilles de la septicémie des canards* qui seront étudiés plus loin. Le Bacille qui est l'agent de l'infection dé-

(1) Sabouraud, Des origines de la pelade (*Soc. de derm. et syph.*, 11 juin 1896).

(2) Eberth, Zur Kenntniss der Mycosen bei Thieren (*Virchow's Arch.*, t. LXXXVIII, 1880, p. 311).

(3) Wolff, Eine verbreitete thierische Mycose (*Virchow's Arch.*, t. XCII, 1883, p. 252.)

signée sous le nom de *psittacose* par Gilbert et Fournier (1) est certainement une autre espèce (Voy. *Bacille de la psittacose*).

MICROCOCCUS BOMBYCIS Béchamp.

(*Microzyma bombycis.*)

Béchamp (2) avait signalé, en 1867, la présence de Bactéries dans l'intestin des Vers à soie morts de *flacherie*. C'est une maladie épidémique pouvant exercer des ravages considérables dans les magnaneries et atteignant surtout les Vers forts, prêts à filer leur cocon. Les Vers malades cessent de manger, languissent et meurent en quelques jours. Les cadavres sont très mous, d'où les noms vulgaires de *morts flats* ou *morts blancs*, puis pourrissent rapidement en exhalant une odeur fétide, aigrelette. Pasteur (3), dans ses belles recherches sur cette affection, a montré qu'elle était due au développement, dans le tube digestif, de plusieurs espèces de Bactéries, parmi lesquelles se rencontrent surtout une espèce en bâtonnets très mobiles, dont certains articles présentent des spores, et un *Micrococcus* à éléments très petits, le plus souvent en diplocoques, parfois en courts chapelets. Il est parvenu à retrouver ces mêmes organismes dans des macérations de feuilles dont se nourrissent les Vers. Ces diverses espèces jouent certainement un rôle différent dans l'infection. Le *Micrococcus*, par exemple, peut se développer dans un Ver sans entraîner la mort ; les bâtonnets mobiles (vibrions) sont beaucoup plus actifs. Les Vers infectés par le mélange de ces Bactéries avec les aliments meurent dans un temps compris entre six et quinze jours ; ceux inoculés par piqûre, avec du contenu intestinal de morts flats, meurent entre deux et trois jours. De plus, la maladie déterminée à l'aide de la macération de feuilles de mûrier ne tue le Ver qu'en douze ou quinze jours ; chez ceux inoculés avec de la matière prise dans un Ver mort de l'affection, la mort survient plus vite, de sept à huit jours d'ordinaire. Ici donc, la matière virulente augmente sa puissance par le passage dans un organisme ; c'est un caractère que l'on sait commun à beaucoup d'affections septiques.

Les Vers à soie ne sont pas les seules chenilles susceptibles de contracter la flacherie. Plusieurs autres espèces de Lépidoptères y sont sujettes, entre autres la *Noctuelle des moissons*, l'*Agrotis segetum*, si nuisible aux cultures.

L'étiologie de la flacherie a été élucidée par les expériences de Pasteur. La cause principale paraît en être la stagnation des aliments dans l'intestin, due probablement au défaut de fonctionnement de cet organe, d'où pullulation des germes de putréfaction qu'ils contiennent. Cependant, les recherches nouvelles peuvent indiquer qu'il y a lieu aussi de faire entrer en ligne de compte certaines affections bactériennes du mûrier qui introduiraient dans le tube digestif du Ver des microbes dangereux pour lui (4).

(1) Gilbert et Fournier, De la psittacose (*Acad. de méd.*, 20 octobre 1896).
(2) Béchamp, *C. R. de l'Acad. des sc.*, t. LXIV, 1867.
(3) Pasteur, Étude sur la maladie des Vers à soie. Paris, 1870.
(4) Boyer et Lambert, Sur deux nouvelles maladies du mûrier (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 21 août 1894). — Macchiati, Lo Streptococcus bombycis e la flaccidezza del baco da Seta (*Stazioni sperim. ital.*, XXI, 1891). — Peglion, Bacteriosi del gelso (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., III, 1897, p. 16 et 60).

MICROCOCCUS DE LA MAMMITE CONTAGIEUSE DE LA VACHE Nocard et Mollereau.

Cette Bactérie cause une variété de mammite chronique, sévissant sur les vaches laitières ; elle a été étudiée d'abord cliniquement par Gerlach et Zürn, puis cliniquement et bactériologiquement surtout par Nocard et Mollereau (1). C'est la même affection qui a été observée en Suisse par Hess et Borgeaud (2), puis par Zschokke (3) et décrite par eux sous le nom de *Gelber Galt* ; Adametz (4) a démontré cette identité. Il a attribué au Micrococque de Nocard et Mollereau le nom de *Streptococcus agalactiæ contagiosæ*. C'est aussi cette même espèce que Guillebeau et Hess (5) ont étudié sous le nom de *Streptococcus mastitis sporadiæ*. La maladie est contagieuse et se propage rapidement dans les étables. Le premier symptôme en est l'apparition d'une induration dans la mamelle, à la base d'un trayon. Le *nœud* grandit lentement et donne une tumeur grosse comme un œuf de poule ou comme le poing, mal délimitée, se perdant insensiblement dans le tissu voisin. Une grande partie de la glande peut ainsi se prendre, mais peu à peu, après plusieurs mois. La mamelle malade ne sécrète plus autant et le lait obtenu par traite a beaucoup changé ; sa réaction est ordinairement acide ; il se coagule vite, souvent dès sa sortie du trayon ; il devient jaunâtre, granuleux, et dégage parfois une odeur fétide ; si on le mélange à d'autre qui est bon, toute la masse s'altère. Cependant la santé générale ne paraît guère souffrir. L'affection peut coexister avec d'autres maladies contagieuses, en particulier avec le cowpox. Il n'y a là qu'une simple coïncidence, toute fortuite, les Bactéries spécifiques bien distinctes se retrouvant à l'exception des autres, comme j'ai pu le constater, dans les lésions caractéristiques des différentes maladies, dont un même individu est porteur.

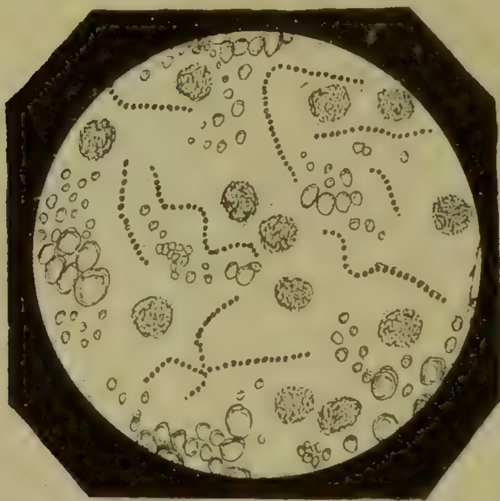


Fig. 189. — Lait de vache affectée de mammite contagieuse.

Morphologie. — A l'examen microscopique, on trouve, dans le lait (fig. 189) et dans la paroi des canaux excréteurs, de nombreux

(1) Nocard et Mollereau, Sur une mammite contagieuse des vaches laitières (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, nº 3, p. 109). Voy. aussi : Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux. Paris, Masson, 1896, p. 799.

(2) Hess et Borgeaud, Euterentzündung contagiöse oder « Gelber Galt » der Kühe (*Schweizer Arch. für Thierheilk*, XXX, 1888, p. 97).

(3) Zschokke, Beitrag zur Kenntniss des gelben Galtes (*Landw. Jahrb. der Schweiz.*, VII, 1893, p. 200).

(4) Adametz, Beitrag zur Kenntniss des Streptokokken des gelben Galt (*Journ. für Landw.*, XLII, 1894).

(5) Guillebeau et Hess, Ueber die Symptomatologie und Therapie der Euterentzündungen bei Rindern und Ziegen (*Landw. Jahrb. der Schweiz.*, VIII, 1894, p. 240).

Micrococcus, arrondis ou ovoïdes, mesurant à peine 1 μ de diamètre, réunis en chapelets parfois très longs et sinueux. Beaucoup sont ovoïdes, allongés et présentent un étranglement médian, indice de la division qui va s'opérer. Ils se colorent bien par les couleurs d'aniline, mais se décolorent facilement ; la méthode de Gram *enlève*, *en grande partie*, *leur coloration* ; celle de Weigert réussit mieux. On observe, en outre, de nombreux globules de pus.

Cultures. — Les cultures sont faciles à obtenir avec du lait, obtenu privé de germes étrangers par le moyen indiqué par Duclaux (1). On lave le trayon avec soin avec une solution antiseptique, puis on recueille du lait dans des tubes stérilisés, en évitant de les faire toucher le pis, après avoir laissé perdre le premier jet.

Le *bouillon* légèrement alcalin, surtout additionné d'un peu de sucre ou de glycérine, est un excellent milieu. On y trouve, après vingt-quatre heures à 35°, une quantité de très longues chaînettes ; il peut même se former des flocons soyeux dans le liquide. Au bout de quelques jours, il s'est déposé un sédiment blanchâtre, léger ; le bouillon reste limpide, mais se trouble par la moindre agitation. Il est déjà devenu acide après vingt-quatre à quarante-huit heures. L'excès d'acide nuit à la culture ; en ajoutant de la craie, la culture est plus vigoureuse et reste vivante plus longtemps. Il se forme alors, dans le bouillon, un magma de cristaux de lactate de chaux ; le rôle de ce *Micrococcus* est donc le même que celui du *Bacillus lacticus*. Malgré cela, les cultures ne sont pas très résistantes ; elles restent souvent stériles après quelques semaines de développement. Les cultures paraissent aussi bien réussir à l'abri de l'air ; c'est une Bactérie à la fois aérobie et anaérobie.

En cultures sur *plaques de gélatine*, on aperçoit, du troisième au quatrième jour, de petites colonies rondes, granuleuses, à bords nets, d'abord transparentes, puis jaunâtres et brunes. Le développement en est très lent ; celles de la surface ne forment qu'une légère saillie après plusieurs semaines. La gélatine *n'est pas liquéfiée*.

A la suite de l'inoculation en *piqûre* dans un tube de *gélatine*, il se forme, au troisième jour, une mince pellicule à la surface et un léger trouble dans le canal. Plus tard, la culture devient plus épaisse, blanche, opaque, granuleuse, et envoie parfois de fines arborisations dans la gelée.

En *strie* sur *gélatine*, *gélose* et *sérum*, il se produit, le long de la strie, de petites colonies rondes, translucides, blanchâtres, qui confluent quelquefois en une mince pellicule.

Inoculation expérimentale. — La maladie se reproduit, facilement chez la vache et la chèvre, par l'inoculation de cultures pures dans le trayon. Les injections dans le péritoine et intraveineuses, tentées chez le chien, le chat, le lapin, le cobaye, n'ont donné aucun résultat.

Rôle étiologique. — L'affection se communique bien certainement, dans une étable, de vache à vache, par la main des personnes qui font

(1) Duclaux, Mémoires sur le lait (*Ann. de l'Inst. agron.*, 1882).

la traite. On peut l'enrayer au début, en faisant, après la traite, des injections antiseptiques, avec une solution d'acide borique à 3 p. 100, dans la glande malade ; toutefois, après guérison, la glande ne sécrète plus autant. Lorsque le mal a envahi une forte partie de la mamelle, on peut encore l'arrêter par des injections répétées fréquemment, mais la glande est perdue complètement pour la lactation.

Lucet (1) a décrit, dans du lait de vaches atteintes de mammites infectieuses, plusieurs Bacilles dont le rôle pathogénique n'est pas certain. D'après Freudenreich (2), de telles Bactéries pourraient nuire à la fabrication de fromage avec ces laits.

Recherche et diagnostic. — Il est surtout intéressant de différencier cette mammite de la mammite tuberculeuse. L'examen bactériologique et les cultures lèveront facilement les doutes.

MICROCOCCUS DE LA MAMMITE GANGRENEUSE DE LA BREBIS Nocard (3).

On connaît sous les noms vulgaires de *mal de pis*, *araignée*, une vive inflammation de la mamelle, observée surtout chez les brebis exploitées pour l'obtention du lait, qui passe à l'état gangreneux et amène ordinairement la mort de l'animal en vingt-quatre, trente-six ou quarante-huit heures. La mamelle atteinte se gonfle rapidement, devient dure, très œdématiée, d'un rouge violacé, chaude et douloureuse à la pression. La partie malade se limite des tissus sains comme une plaque d'érysipèle. L'engorgement fait des progrès ; puis les parties envahies se mortifient. La ponction de l'œdème donne un liquide roussâtre qui fourmille de Microcoques. L'état général devient très grave, les mamelles se gangrènent entièrement et l'animal meurt. La plupart des brebis atteintes succombent ; chez quelques-unes, l'œdème s'arrête, les tissus infiltrés meurent et s'éliminent lentement, la cicatrisation se fait : la brebis guérit, mais la mamelle est perdue.

Morphologie. — Les Microcoques, que l'on trouve dans la sérosité et le lait (fig. 190) dès le premier jour, sont de petite taille, mesurant à peine 0,2 μ de diamètre ; ils sont isolés, réunis par quatre ou en petits amas, mais jamais en chapelets. Ils *restent colorés* après traitement par la méthode de Gram.

Cultures. — On les cultive très bien dans du *bouillon* additionné d'un peu de sucre. En vingt-quatre heures, le liquide est devenu trouble, lactescent. Au bout de deux jours, il offre un dépôt abondant ; il est devenu acide, moins cependant que lorsqu'il s'agit de l'espèce précédente, et le développement s'arrête. En ajoutant un peu de craie au liquide, on prolonge la végétation. Les cultures se font aussi bien à l'abri de l'air qu'en sa présence, comme pour l'espèce précédente.

(1) Lucet, *Rec. de méd. vét.*, 1889, p. 423.

(2) Freudenreich, Sur quelques Bactéries produisant le boursouflement des fromages (*Ann. de micr.*, II, 1890, p. 353).

(3) Nocard, Note sur la mammite gangreneuse des brebis laitières (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, n° 9, p. 417).

Cette Bactérie se multiplie très vite dans le *lait*; elle y provoque la formation, en vingt-quatre heures, d'un coagulum ferme; le petit-lait et le coagulum, devenus acides, fourmillent de Microcoques.

En cultures sur *plaques*, on observe dans la gélatine, au troisième jour, des colonies rondes, blanches; celles qui arrivent à la surface grandissent plus vite et provoquent rapidement la liquéfaction de la gelée. Elles sont formées d'une tache centrale arrondie, brunâtre, entourée d'une auréole de liquéfaction.

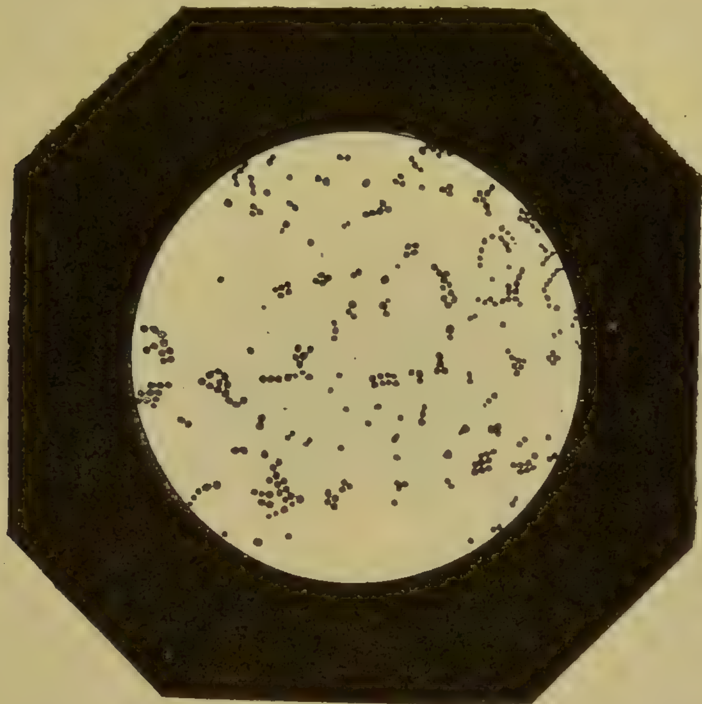


Fig. 190. — Microcoque de la mammite gangreneuse de la brebis (d'après Nocard).

En *piqûre* dans un tube de *gélatine*, le développement se fait rapidement. La liquéfaction est déjà nette à la surface vers le second jour à la température de 20°. Au cinquième jour, on obtient un large cône de liquéfaction, dont le sommet obtus, tourné en bas, renferme une masse blanche. Dans une atmosphère d'acide carbonique, la liquéfaction est beaucoup plus lente à se montrer; elle n'est bien nette qu'après une dizaine de jours; la Bactérie se développe maigrement dans tout le trajet de la piqûre.

Sur *gélose*, il se forme une pellicule épaisse qui, d'un blanc mat au début, devient peu à peu jaunâtre.

La culture sur *pomme de terre* donne une mince couche grisâtre, à bords festonnés plus épais que le centre. Elle prend peu à peu une teinte jaune; la zone périphérique jeune reste seule grisâtre.

Inoculation expérimentale. — L'injection de quelques gouttes de culture fraîche dans le trayon d'une brebis détermine une mammite rapidement mortelle. Les cultures ne gardent leur virulence intacte que si l'on a soin de les renouveler chaque jour. La chèvre paraît réfractaire. Des inoculations sous-cutanées, faites à des chiens, chats, cobayes, n'occasionnent qu'un peu d'œdème au point d'introduction.

Chez le lapin, au contraire, elles produisent des abcès dont le pus contient en très grand nombre la Bactérie en question.

La brebis semble seule apte à contracter la maladie expérimentale. L'inoculation au lapin détermine la formation d'un abcès chaud dont le pus renferme en grand nombre les Microcoques spéciaux; l'animal ne paraît aucunement en souffrir.

Cette mammite gangreneuse de la brebis ne cède à aucun traitement; le seul moyen de sauver la femelle est celui employé de tout temps par les bergers; faire une incision cruciale, extirper les lambeaux de la glande malade et panser avec une solution concentrée de sulfate de cuivre. Et encore la mamelle est perdue sans retour. L'étiologie de cette affection n'est pas encore éclaircie; elle sévit à l'état enzootique dans plusieurs régions et cause beaucoup de dommage dans les troupeaux des fromagers.

Roger et Garnier (1) ont rencontré dans un cas de mammite gangreneuse chez la femme un *Micrococcus* voisin de celui de la brebis, mais s'en distinguant cependant par quelques caractères. Anaérobie facultatif, il reste également coloré par la méthode de Gram. En culture dans le bouillon, il donne un trouble uniforme et un dépôt abondant. La gélatine n'est pas liquéfiée. Sur gélose, il donne de petites colonies blanchâtres. Le lait est assez rapidement liquéfié. L'inoculation au lapin et au cobaye détermine des suppurations cutanées et viscérales qui entraînent le plus souvent la mort.

MICROCOCCUS DE LA FIÈVRE APHTEUSE DES BOVIDÉS.

On est très peu fixé jusqu'ici sur l'agent virulent de cette affection. Le liquide des pustules qui se développent sur les muqueuses, à la bouche principalement, et aux endroits où la peau est mince, entre les onglons et à la mamelle surtout, est manifestement virulent et peut-être contient exclusivement l'agent actif; la virulence du sang est des plus douteuse.

La fièvre aphteuse sévit surtout sur les bovidés et le porc, souvent sous forme d'épizootie. Les moutons et les chèvres sont aussi très réceptifs. Le chien et le chat pourraient la contracter à la suite d'usage de lait fourni par des bêtes malades. Les lapins, cobayes, souris, rats, oiseaux, sont tout à fait réfractaires à la contagion et aux inoculations expérimentales.

La contagiosité à l'homme ne peut faire aucun doute. L'homme prend la fièvre aphteuse par inoculation directe du virus de bêtes malades ou par ingestion de lait qui en provient et se trouve souillé par des matières virulentes. Le beurre et le fromage frais conservent la virulence et peuvent aussi être infectants pour l'homme.

Le virus aphteux est très actif; il suffit de doses très minimes, un cinq-millième de centimètre cube par exemple, pour déterminer l'infection.

L'agent de contage n'est pas encore connu, malgré de nombreuses recherches faites dans ce sens.

(1) Roger et Garnier, Sur un cas de mammite gangreneuse (*Soc. de Biol.*, 15 juillet 1899).

Piana et Fiorentini (1) ont incriminé un Protozoaire, sorte d'Amibe, qu'ils disent rencontrer toujours dans le contenu des vésicules aphteuses; ils l'ont nommé *Protamoeba aphtogenes*. Les expériences qu'ils rapportent ne sont nullement concluantes.

Kurth (2) et Schottelius (3) ont isolé des vésicules aphteuses un Microcoque en chaînettes que Kurth nomme *Streptococcus involutus*. Il l'a obtenu en cultures.

Dans un mélange à parties égales de sérum de veau ou de bœuf et de bouillon peptonisé, il donne, en vingt-quatre heures, un voile épais, cireux, d'un jaune brillant; le liquide reste clair.

Sur gélose additionnée de son volume de sérum, il forme une culture semblable.

Les éléments de ces cultures possèdent une sorte de capsule qui ne se colore pas aux couleurs d'aniline.

L'inoculation de ces cultures au veau ne donne aucun résultat.

Siegel (4) a décrit dans le contenu des vésicules aphteuses des bovidés et de l'homme une courte Bactérie de 0,5 μ à 0,7 μ, se colorant presque uniquement aux deux pôles et se décolorant par la méthode de Gram. Elle se cultive facilement sur tous les milieux et ne liquéfie pas la gélatine. Son inoculation aux veaux et aux porcelets détermine une sorte de septicémie, avec production de taches rouges à la peau et gonflement de la muqueuse buccale et nasale, en somme quelque chose d'analogue au scorbut. Le même microbe a été retrouvé par Bussenius (5).

Stutzer et Hartleb (6), en cultivant du contenu de vésicules aphteuses sur de la gélose additionnée de petit-lait, à réaction faiblement acide, ont isolé un microbe assez polymorphe, se présentant sous forme de Diplocoques, de courtes chaînettes, ou de petits bâtonnets ovoïdes, de 0,5 μ à 1 μ de largeur, qu'ils croient pouvoir jouer un rôle actif dans l'infection, sans cependant avoir observé rien de probant à ce sujet. Ce microbe croît bien sur les divers milieux; suivant le cas, il se présente sous forme de coccus, de Diplocoques, de Streptocoques, de bâtonnets et même de filaments pouvant même donner des ramifications. Il n'est pas possible d'être en quoi que ce soit affirmatif; le microbe paraît cependant être réellement pathogène pour les jeunes veaux.

Loeffler (7) fait table rase de toutes ces données, et pense que l'agent de contage de la fièvre aphteuse reste encore à découvrir. Pour lui, ce

(1) Piana et Fiorentini, Neuer Beitrag zur Morphologie und Biologie des pathogenen Protozoen (Protamoeba aphtogenes) der Maul und Klauenseuche (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 323).

(2) Kurth, Bakteriologische Untersuchungen bei Maul und Klauenseuche (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, VIII, 1893, p. 439).

(3) Schottelius, Ueber einen bacteriologischen Befund bei Maul und Klauenseuche (*Centralbl. für Bakt.*, XI, 1892, p. 75).

(4) Siegel, Die Mundseuche (stomatitis epidemica), Maul und Klauenseuche der Menschen (*Arch. für Laryng.*, 1895).

(5) Bussenius et Siegel, Zur Frage des Bacillus der Maul und Klauenseuche (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1897, p. 127).

(6) Stutzer et Hartleb, Das Bakterium der Maul und Klauenseuche (*Arch. für Hygiene*, XXX, 1897, p. 372).

(7) Loeffler, Bericht der Kommission zur Erforschung der Maul und Klauenseuche bei dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1898, n° 35, et *Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 569).

doit être un microbe de dimensions très minimes, restant en deçà des limites de la visibilité, même avec les objectifs les plus perfectionnés, et pouvant traverser les pores des filtres employés. Ce microbe ne peut se développer que dans des organismes réceptifs; aucune culture en milieux artificiels ne lui a donné de résultats. C'est à cette même conclusion, existence d'un microbe trop ténu pour être visible, que Nocard et Roux (1) sont aussi arrivés pour la péripneumonie bovine.

D'après Loeffler et Frosch (2), on pourrait conférer l'immunité aux animaux en leur injectant dans les veines de un centième à un dixième de centimètre cube de lymphe aphteuse chauffée à 37° pendant douze heures. Le sang de ces animaux immunisés contient des substances protectrices; en le mélangeant avec de la lymphe active et en injectant le mélange à des animaux neufs, non seulement ceux-ci ne prennent pas la maladie, mais ils présentent une immunité réelle à l'égard de doses de virus frais qui sont réellement infectantes. On pourrait peut-être arriver, en procédant suivant cette méthode, à vacciner, au moins temporairement, des animaux encore indemnes en cas d'épidémie.

Siegel (3) a aussi annoncé que le sang recueilli en pleine éruption vésiculeuse était nettement immunisant en injection sous-cutanée; cette propriété se conserverait plusieurs semaines dans le sang défibriné et mélangé à de la glycérine.

MICROCOCCUS DE LA GOURME DU CHEVAL.

(*Streptococcus equi de Schütz.*)

La *gourme* est une maladie qui frappe surtout le cheval et, à un moindre degré, l'âne et le mulet. Les jeunes animaux y sont principalement sujets; une première atteinte ne confère le plus souvent qu'une immunité temporaire.

Les symptômes et l'évolution de l'affection sont des plus variés. Elle peut n'être qu'un simple exanthème. Le plus souvent, elle se traduit par un catarrhe des voies respiratoires antérieures, surtout de la muqueuse nasale, avec jetage séreux ou purulent; les ganglions lymphatiques voisins se gonflent, d'où le nom de gourme, et suppurent dans bien des cas. La maladie peut même se généraliser, prendre les caractères d'une véritable septicémie, avec abcès métastatiques dans les organes et complications sur les séreuses.

L'agent de contage paraît être un Streptocoque décrit et étudié la première fois par Schütz (4), peu après par Sand et Jensen (5), puis par

(1) Nocard et Roux, Le microbe de la péripneumonie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 240).

(2) Loeffler et Frosch, Summarischer Bericht über die Ergebnisse der Untersuchungen der Kommission zur Erforschung der Maul und Klauenseuche bei dem Institute für Infektionskrankheiten in Berlin (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 257).

(3) Siegel, Ueber Immunisierungsversuche gegen Maul und Klauenseuche (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1898, nos 47 et 48, p. 749 et 766).

(4) Schutz, Der Streptococcus der Druse des Pferdes (*Arch. für Thierheilk.*, XIV, 1888, p. 172).

(5) Sand et Jensen, Die Aetiologie der Druse (*Deutsche Zeitschr. für Thiermed.* XIII, 1888, p. 437).

Pœls (1). Ces travaux sont bien exposés dans une revue critique de Lüpke (2).

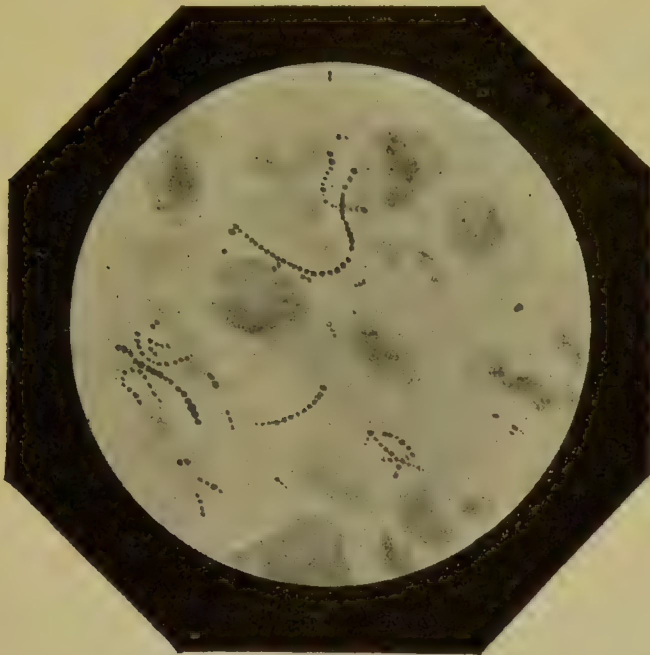


Fig. 191. — Pus gourmeux du cheval.

Il se rencontre dans le pus des abcès gourmeux en nombreuses chaînettes tantôt courbes, formées de trois ou quatre microcoques, tantôt très longues et ondulées, ou même sous forme d'éléments isolés (fig. 191). Les éléments isolés sont arrondis; ceux des chaînettes sont plutôt ovales, à grand axe transversal.

Tous ces éléments se colorent facilement aux procédés ordinaires et *restent colorés* par la méthode de Gram.

Schütz ne l'a obtenu que difficilement en culture et presque exclusivement dans le bouillon. D'après Nocard (3), il pousse sur tous les milieux, aussi bien en aérobie, qu'en anaérobie.

Dans le *bouillon*, surtout dans le *bouillon glycériné*, il se forme dans le liquide, qui reste limpide, de petits flocons blancs qui se sédimentent lentement en un dépôt léger.

Sur *gélatine*, en *piqûre* seulement, il se développe, le long de la piqûre, de petites colonies rondes, blanches, toujours minimes.

Sur *gélose*, en *strie*, les cultures restent aussi minimes, lenticulaires, presque transparentes; le développement est plus abondant, floconneux, dans le liquide de condensation qui peut se trouver au fond du tube. En *piqûre*, les colonies qui poussent en profondeur sont notablement plus fortes.

Sur *sérum*, la culture est plus abondante; il se forme au début des colonies arrondies assez transparentes, qui confluent au bout de quel-

(1) Poels, Die Mikrokokken der Druse des Pferdes (*Fortschr. der Med.*, VI, 1888, p. 4).

(2) Lupke, Die ursächliche Erreger der Drüsenkrankheit des Pferdes (*Centralbl. für Bakt.*, V, 1889, p. 44).

(3) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux, 2e éd., 1898, p. 494.

ques jours et forment une bande assez épaisse, d'un blanc grisâtre, à reflets nacrés. Les Microcoques de ces cultures sur sérum montrent souvent une petite capsule dans les préparations colorées.

L'inoculation de cultures pures au cheval détermine de véritables abcès gourmeux.

Le lapin et surtout le cobaye paraissent en partie réfractaires.

Le premier est tué par l'inoculation intraveineuse de doses massives, jusqu'à 3 centimètres cubes; le second ne succombe qu'à l'inoculation intrapéritonéale de grandes quantités de culture. Les inoculations sous-cutanées ne leur font rien.

La souris blanche est très sensible; c'est l'animal de choix. En inoculation sous-cutanée, on observe un abcès au point d'inoculation et souvent les mêmes manifestations métastatiques que dans la maladie du cheval. Les mêmes lésions se produisent avec des produits gourmeux.

Beaucoup de ces caractères rappellent ceux du *Streptocoque pyogène*, dont cette espèce se rapproche. Pour Cappeletti et Vivaldi (1), d'après sa morphologie, sa virulence à l'égard des animaux, ses propriétés biologiques, sa manière de se comporter vis-à-vis du sérum de Marmoreck, le *Streptocoque equi* ne serait qu'une variété du *Streptocoque pyogène*.

MICROCOCCUS DE LA NÉCROSE PROGRESSIVE DU TISSU CONJONCTIF DE LA SOURIS Koch.

En injectant à des souris de maison du sang putréfié, Koch (2) a déterminé une affection rapidement mortelle, due à l'action combinée d'un Bacille et d'un Microcoque. Il a pu isoler ce dernier par inoculation d'une goutte de sang prise sur la première souris à une souris de champ, qui présente la particularité d'être réfractaire à l'action du Bacille que nous étudierons plus loin sous le nom de *Bacillus murisepticus*. Au point d'inoculation, il se produit une gangrène à marche rapide, qui envahit progressivement les tissus voisins et amène d'habitude la mort en trois jours. Le parasite ne se rencontre ni dans le sang de la circulation générale, ni dans les organes internes; on le trouve exclusivement dans la région envahie.

Ce sont des cellules rondes, mesurant 0,5 μ de diamètre, formant de longues chaînes à courbures élégantes.

MICROCOCCUS DE LA SUPPURATION PROGRESSIVE DU LAPIN Koch.

Isolé par Koch (*loc. cit.*) du sang putréfié par injection sous-cutanée au lapin. Il se forme à l'endroit de la piqûre une tuméfaction rapide, puis un abcès qui fuse dans les parties voisines. La mort arrive au bout de douze jours. Le pus inoculé à un autre lapin produit la même maladie. Les parois de la collection purulente sont recouvertes d'une couche épaisse de Bactéries très petites, de 0,15 μ de diamètre; on en

(1) Cappeletti et Vivaldi, Streptococcus equi (*Annali d'Igiene sperimentale*, VIII, 1898, p. 104).

(2) Koch, Ueber die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig, 1878. — Zur Untersuchung von pathogenen Organismen (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881). — Voy. aussi Gaffky, Ueber experimentell erzeugte Septicämie (*Ibid.*).

trouve également de grosses zooglées fusiformes entre les vaisseaux du tissu conjonctif qui environne l'abcès. Le pus du centre de l'abcès n'en contient pas, non plus que le sang.

MICROCOCCUS DE LA PYÉMIE DU LAPIN Koch.

Koch (*loc. cit.*) a causé chez le lapin une infection purulente généralisée, par l'injection, sous la peau, d'un liquide de macération. On observe d'abord de l'œdème au point d'inoculation, puis une infiltration purulente et la mort après trois ou quatre jours. A l'autopsie, outre les lésions locales, on trouve des abcès métastatiques dans le poumon et le foie et un très fort gonflement de la rate. Dans les vaisseaux, on rencontre des amas compacts de *Micrococcus* ronds, de 0,25 μ de diamètre, englobant souvent des globules rouges ; il se forme ainsi des thrombus qui peuvent remplir les capillaires.

MICROCOCCUS DE LA SEPTICÉMIE CONSÉCUTIVE AU CHARBON Charrin.

En inoculant au lapin du sang d'un de ses congénères mort depuis peu de temps du charbon, Charrin (1) a déterminé une septicémie amenant la mort de dix-huit à quarante-huit heures. Les principaux caractères sont, à l'autopsie, un œdème rougeâtre au point d'inoculation et un fort gonflement de la rate. On trouve très abondamment, dans le sang de tous les organes, des *Micrococcus* ronds ou légèrement ovoïdes, de 1 à 2 μ de diamètre, disposés en longs chapelets ayant jusqu'à vingt articles. C'est un aérobie légèrement mobile, se cultivant très bien dans le bouillon, mais y perdant très vite sa virulence. Les cultures meurent à 45 degrés.

La maladie se transmet au lapin, au moineau et quelquefois au rat. Le chien, la poule, le cobaye, la grenouille y résistent. Le *Micrococcus de la septicémie du lapin* de Koch tue au contraire facilement les poules.

MICROCOCCUS DE LA SEPTICÉMIE DU LAPIN Koch.

En inoculant à des lapins du sang de bœuf putréfié, Davaine (2) avait déterminé chez ces animaux une septicémie à forme toute spéciale. Koch (3) a reproduit la même affection par inoculation de macéré de viande putréfiée. Après la mort, qui survient de un à trois jours, on trouve un peu d'œdème autour du point d'inoculation et un fort gonflement de la rate. Dans les capillaires des organes, surtout dans les glomérules du rein, on rencontre des amas de *Micrococcus*, obturant le calibre des vaisseaux. Ces éléments sont ovoïdes et mesurent de 0,8 μ à 1 μ, dans leur grand diamètre. La sérosité de l'œdème et le sang contiennent de ces Bactéries et transmettent la maladie aux lapins et aux souris, par inoculation ; il faut injecter sous la peau une quantité

(1) Charrin, Note sur une septicémie (*Soc. de Biol.*, 2 août 1884).
(2) Davaine, Recherches sur quelques questions relatives à la septicémie (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1872, p. 907 et 976).
(3) Koch, Ueber die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig, 1878.

de sang assez forte, de deux à dix gouttes d'après Koch. On n'a que peu de détails sur les cultures de cette espèce; elle se développe bien sur gélatine, sans causer de liquéfaction.

Les symptômes occasionnés par l'inoculation aux lapins sont identiques à ceux que détermine, chez ces animaux, le *Micrococcus du choléra des poules*. D'après Davaine, cependant, les poules seraient réfractaires à l'espèce que nous étudions.

Daremberg (1) a décrit une septicémie, très voisine ou identique, qu'il a obtenue en inoculant au lapin des produits tuberculeux. La mort arrive après vingt-quatre à quarante heures. Les symptômes ressemblent à ceux décrits par Koch. La maladie est épidémique et se transmet facilement aux lapins du voisinage. Les cobayes résistent plus que les lapins. Le sang et les organes des lapins morts contiennent des *Micrococcus* ovoïdes, disposés en chaînettes ou en amas, rarement par deux ou quatre, qui se cultivent sur gélatine sans la liquéfier. Les cultures conservent leur virulence après avoir été chauffées à 55 degrés L'atténuation se fait très rapidement; les deuxièmes cultures sont déjà moins actives que les premières.

Lucet (2) a observé une affection semblable décimant les lapins d'un clapier. Les lapins atteints maigrissent, tombent en somnolence, se ramassent en boule, puis meurent. L'autopsie montre un foie volumineux, une rate hypertrophiée, noire; les autres organes sont le plus souvent normaux.

Le sang et le suc des organes renferment en très grande abondance un petit Microcoque immobile, isolé ou par couples, de 0,7 μ à 0,9 μ de diamètre, se colorant facilement, mais *perdant la couleur* par la méthode de Gram.

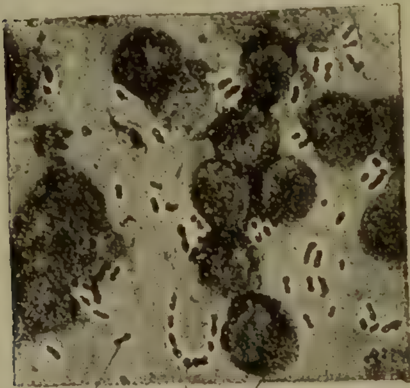


Fig. 192. — Diplocoques capsulés de la salive (d'après Biondi).

Il est facile d'en obtenir des cultures vers 35°, la croissance devient lente à 18 degrés. Le bouillon se trouble et montre, en quelques jours, un voile épais qui se dissocie. Sur gélose, il se forme une culture blanche, épaisse, poisseuse.

Les cultures fraîches sont très virulentes et tuent rapidement les lapins. La virulence et la puissance végétative se perdent vite au contact de l'air.

On devra peut-être rapprocher cette espèce des microbes qui occasionnent certaines affections contagieuses du gibier (*Wildseuche*) (Voy. *Septicémie des bovidés*) et la maladie épizootique observée par Eberth et Schimmelbusch (3) sur les furets (Voy. *Septicémie des furets*). Toutefois, l'agent de cette dernière maladie est mobile et très peu virulent pour les poules; chez le lapin et le cobaye, il ne produit qu'une inflammation locale.

(1) G. Daremberg, Note sur une septicémie du lapin (*Soc. de Biol.*, 1886, p. 457).
(2) Lucet, Sur une nouvelle septicémie du lapin (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1889, n° 8).
(3) Eberth, *Arch. für path. Anat.*, 1889, p. 340.

MICROCOCCUS SALIVARIUS SEPTICUS Biondi.

Biondi (1), dans ses recherches sur les Bactéries de la salive, ne l'a rencontré qu'une seule fois, dans la salive d'une femme malade de fièvre puerpérale. Cette salive, inoculée sous la peau de souris, cobayes et lapins, les tuait en un laps de temps variable de quatre à six jours. On leur trouve de nombreux coccus dans le sang et de petits amas dans les tissus, qui ne présentent aucune trace d'inflammation dans leur voisinage. Le sang de ces animaux, inoculé à d'autres, les fait périr avec les mêmes symptômes.

Les coccus sont régulièrement sphériques, isolés, réunis par deux ou en petits amas. Ils se colorent bien par les couleurs d'aniline et *restent colorés* par la méthode de Gram (fig. 192). Ils se cultivent facilement sur les milieux habituels, à part le lait et les pommes de terre. Les cultures se font à l'air ou dans une atmosphère d'azote.

En cultures sur plaques, on obtient des colonies circulaires grisâtres, qui ne liquéfient pas la gélatine. En piqûre dans un tube de gélatine, il se forme, dans le trajet de l'aiguille, de petites colonies rondes, accolées les unes aux autres et presque rien à la surface.

Par inoculation de produit de cultures, on obtient les mêmes résultats qu'avec le sang contaminé; seulement, il faut alors user de beaucoup plus fortes doses. Il faut inoculer la valeur de quatre à six cultures pour arriver aux troubles occasionnés par une ou deux gouttes de sang. Ce *Micrococcus* est certainement à rapprocher du *Micrococcus Pasteuri*.

MICROCOCCUS SALIVARIUS PYOGENES Biondi (2).

(*Staphylococcus salivarius pyogenes.*)

On obtient souvent une suppuration locale après injection sous-cutanée de salive chez les animaux d'expérience. Il se forme au point choisi, au bout de trois ou quatre jours, un gonflement qui devient fluctuant. Dans le pus, on trouve toujours, au milieu des globules de pus, un *Micrococcus* disposé en petits amas, en tout semblable aux *Micrococcus pyogenes aureus* et *Micrococcus pyogenes albus*. Ce pus, injecté à d'autres animaux, produit les mêmes symptômes que ceux déterminés chez les premiers par l'injection de salive. Après vingt-quatre heures, il se forme, au point d'inoculation, un gonflement très dur, très douloureux à la pression. Au quatrième jour, le centre devient plus mou et du sixième au septième on perçoit une fluctuation très nette. L'abcès ouvert laisse sortir un pus jaune, crémeux, contenant en quantité les coccus signalés précédemment.

Ce sont des coccus sphériques de petite taille, de 0,2 μ à 0,5 μ de diamètre, isolés ou en petits amas, mais jamais en Diplocoques ou en chaînes. Ils *se colorent* très bien par la méthode de Gram. On ne les rencontre jamais dans le sang.

Ils se cultivent bien sur la gélatine qu'ils liquéfient lentement.

(1) Biondi, Die pathogenen Microorganismen des Speichels (*Zeitschr. für Hygiene*, II, 2e p., p. 194).

(2) Biondi, *loc. cit.*

En cultures sur plaques, les colonies apparaissent au bout de deux à trois jours ; elles sont rondes, à bords nets, d'un blanc opaque. En cinq ou six jours, elles ont atteint leur maximum, puis liquéfient lentement la gélatine environnante.

En piqûre dans un tube de gélatine, à 12-14°, le développement se fait d'abord à la surface, puis dans le canal. Au huitième jour, il s'est formé un entonnoir de liquéfaction qui augmente peu à peu. Le liquide est trouble et tient en suspension de petits grumeaux, d'apparence graisseuse, qui se rassemblent surtout à la pointe de l'entonnoir. A la surface de la gélatine liquéfiée, se trouve une mince pellicule très visqueuse.

Sur gélose, la croissance est très rapide. La culture est déjà visible en vingt-quatre heures à 35°. Elle forme au bout de quelque temps le long de la strie une bande épaisse qui peut atteindre un centimètre de large. Au centre, cette culture a une belle couleur orange ; la partie périphérique est blanche. La couleur jaune est moins intense que celle du *Micrococcus pyogenes aureus*.

Sur sérum, on obtient une colonie blanchâtre opaque. Le bouillon est troublé en deux heures à 35°, puis laisse voir après quelque temps un épais dépôt blanc. Le lait est bientôt coagulé ; la caséine se précipite en gros flocons.

Les cultures sont virulentes ; leur inoculation produit les mêmes effets que celle du pus. Elles sont tout aussi actives après de nombreuses générations ; conservées pendant six mois, elles ont gardé toute leur virulence, qui résiste même à une dessiccation prolongée.

Ces particularités diffèrent peu de celles qui appartiennent aux *Micrococcus pyogenes aureus* et *Micrococcus pyogenes albus*, dont Vignal (1) a du reste signalé la présence dans la salive. D'après Biondi, cependant, la distinction est très nette. Le *Micrococcus salivarius pyogenes* liquéfie plus lentement la gélatine ; la liquéfaction ne commence à 12-14° qu'au vingtième jour ; à ce moment, les autres ont déjà liquéfié une bonne partie de la gelée. La coloration du premier est d'un jaune d'or plus clair que celle du *Micrococcus pyogenes aureus* ; il forme souvent à la surface de la gélatine liquéfiée une pellicule qui ne s'observerait pas avec les autres. Enfin les coccus sont plus isolés dans le pus. Après avoir étudié un grand nombre de cultures de *Micrococcus pyogenes aureus*, on arrive à se convaincre que les caractères cités sont loin d'être aussi nettement différentiels. La liquéfaction déterminée par cette dernière espèce ne marche souvent que lentement, lorsqu'on se sert, pour inoculer, d'une culture de troisième ou quatrième génération ; la coloration des colonies sur gélose est aussi moins vive. Enfin il arrive fréquemment d'observer sur la gélatine liquéfiée par le *Micrococcus pyogenes aureus* cette pellicule très visqueuse, adhérant au fil de platine et se laissant étirer en longs fils, que Biondi donne comme si caractéristique pour son espèce. Des nouvelles recherches sont nécessaires pour élucider la question et établir la véritable nature des espèces étudiées par Biondi.

(1) Vignal, Recherches sur les microorganismes de la bouche (*Arch. de phys.*, 1886, n° 8).

MICROCOCCUS DANS LA SCARLATINE.

Coze et Feltz (1) ont signalé, en 1872, la présence de *Micrococcus* de 0,6 μ de diamètre, dans le sang de malades atteints de scarlatine. Pohl Pincus (2) dit avoir trouvé, en 1883, des coccus de 0,5 μ chez des scarlatineux, à la surface de l'épiderme desquamé et sur le voile du palais dans un cas d'angine.

La présence de Streptocoques très semblables à ceux du pus ou de l'érysipèle a été signalée par de nombreux observateurs dans diverses lésions de la scarlatine. Il n'est guère possible, actuellement, de les distinguer du *Streptocoque pyogène* dont les caractères sont, on le sait, assez variables. Fraenkel et Freudenberg (3) ont obtenu des cultures d'un de ces Streptocoques avec le suc du rein, du foie et de la rate, dans trois cas mortels de scarlatine. Babès (4) a retrouvé, dans dix-huit cas sur vingt mortels de scarlatine, un microbe en chaînettes qu'il regarde comme une simple variété du Streptocoque du pus. Raskin (5) décrit un *Micrococcus*, qui se rencontre surtout dans les leucocytes et dans l'épiderme desquamé et diffère surtout du *Streptocoque pyogène* parce qu'il ne se développe pas sur gélatine à la température de la chambre.

Loeffler (6) et plus tard Würtz et Bourges (7), étudiant les fausses membranes de l'angine scarlatineuse, y rencontrent de ces mêmes Streptocoques, seuls ou avec le Bacille de la diphtérie dans les cas graves et presque toujours mortels.

Il semble ressortir de là que les Bactéries pyogènes jouent un rôle important dans la marche et surtout la gravité de la scarlatine.

En 1886, à propos d'une épidémie très meurtrière de scarlatine qui sévit sur Londres, Power (8) crut pouvoir rattacher cette maladie à une affection contagieuse développée chez les vaches et expliquer la transmission à l'homme par l'usage du lait cru provenant d'animaux malades. La maladie bovine fut étudiée par Klein (9); les vaches qui en étaient atteintes présentaient, sur les mamelles et les trayons, des ulcérations qui, inoculées à des veaux, se reproduisaient identiques. Souvent la maladie devenait plus grave et les animaux succombaient avec des symptômes rappelant ceux de l'infection purulente. Les ulcérations de la vache contenaient en grand nombre des Diplocoques isolés ou unis en chaînes de deux à vingt couples.

(1) Coze et Feltz, Recherches cliniques et expérimentales sur les maladies infectieuses. Paris, 1872.

(2) Pohl Pincus, Befund an der Epidermisschuppen von Scarlachkranken in der Schalungperiode (*Centralbl. für die med. Wissensch.*, 1883, n° 36).

(3) Fraenkel et Freudenberg, *in* Cornil et Babès, Les Bactéries, 3e éd., t. II, p. 265.

(4) Babès, *in* Cornil et Babès : Les Bactéries, 3e éd., II, p. 266.

(5) Raskin, Ueber die Aetiologie des Scarlachs (*Centralbl. für Bakt.*, V, 1889).

(6) Loeffler, Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für den Enstehung der Diphterie (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, 1884).

(7) Wurtz et Bourges, Recherches bactériologiques sur l'origine pseudo-diphtéritique de la scarlatine (*Arch. de méd. expér.*, 1890, p. 341).

(8) Power, Milk-Scarlatina (*London Report of the Med. Officer of local-Government Board for 1885-1886*, n° 8, p. 73).

(9) Klein, The Etiology of scarlet Fever (*Proceedings of the Royal Society*, London, XLII, 1887).

Klein a pu cultiver ce *Micrococcus*, en inoculant des tubes de gélatine et de gélose avec de la lymphe recueillie dans la partie profonde de l'ulcération. Il a observé, après trois jours à la température ordinaire, de petites sphères blanches tout le long de la piqûre et, à la surface, une petite colonie, aplatie, n'atteignant pas un grand développement; la gélatine n'était pas liquéfiée. Cultivée dans le lait, cette Bactérie le coagule en deux jours à 35° et le coagulum reste ferme.

Les cultures ont été inoculées à des veaux; l'un d'eux est mort au bout de vingt-six jours. Le point d'inoculation était le siège d'un gonflement marqué; les ganglions voisins étaient très tuméfiés. L'autopsie a montré de la péricardite et de la péritonite avec sérosité purulente, le foie hypérémié et augmenté de volume, les poumons en partie hépatisés, à exsudat renfermant une quantité de Diplocoques. Le pharynx était rouge et gonflé; la muqueuse de l'intestin grêle pâle et les plaques de Peyer tuméfiées. Le sang du cœur, mis en culture, a donné des chaînettes de Microcoques.

Ce *Micrococcus*, regardé comme spécifique par Klein, ne serait, d'après des données plus récentes, que le *Micrococcus pyogenes*, et la maladie de la vache une forme de cowpox.

Jamieson et Edington (1) ont repris cette étude sur l'homme, à Édimbourg. Ils ont trouvé dans le sang et dans la peau de scarlatineux huit espèces de Bactéries, pour la plupart communes partout. Comme nouvelles et en rapport plus ou moins direct avec l'affection. Edington décrit deux *Micrococcus* et un *Bacillus*. L'un des Microcoques, qu'il appelle *Streptococcus rubiginosus*, n'est pas infectieux et n'apparaît que vers la fin de la maladie. Le second, *Diplococcus scarlatinæ*, donne sur la gélatine des colonies blanc jaunâtre qui ne liquéfient pas; il n'est pas pathogène. Le *Bacillus* semble à Edington le véritable agent de contagion; il le nomme *Bacillus scarlatinæ*. Ce sont des bâtonnets mobiles, mesurant de 1,2 μ à 1,4 μ de long sur 0,4 μ de large. Ils forment dans leur intérieur des spores ovales de 1 μ à 1,5 μ de long sur 0,6 μ à 0,75 μ de large, entourées d'une sorte de capsule se colorant faiblement avec une solution étendue de bleu de méthylène. Cultivé sur bouillon, ce Bacille y forme un voile. Il liquéfie rapidement la gélatine; le liquide, trouble au début, devient peu à peu limpide. Sur pomme de terre, il donne en vingt-quatre heures à 18° une colonie jaune-citron qui envahit toute la surface. Cette espèce se retrouve toujours sur les cultures faites avec l'épiderme desquamé, à partir du vingt-cinquième jour. L'inoculation à des lapins et des cobayes a produit une élévation de température et une rougeur érythémateuse assez étendue. Un jeune veau, auquel avait été faite une injection sous-cutanée de culture, est mort avec de la fièvre; son sang contenait les mêmes Bacilles. Chez un autre, Edington a observé un gonflement du voile du palais et une inflammation de la langue.

Peu après, Smith (2) annonçait avoir trouvé, dans des cultures de sudamina d'un homme sain, une Bactérie identique au *Bacillus scarla-*

(1) JAMIESON et EDINGTON, Observations on a method of prophylaxis and on investigation into the nature of the contagium of scarlet fever (*The British med. Journ.*, 11 juin 1887, p. 1262).

(2) SMITH, Note on the so-called Bacillus scarlatinæ of Drs. Jamieson and Edington (*The British med. Journ.*, 9 juillet 1887).

linæ d'Edington. Une commission, nommée par la Société médico-chirurgicale d'Édimbourg, pour examiner les expériences d'Edington, a obtenu des résultats tout à fait contraires à ceux que cet auteur avait énoncés. Le *Bacillus scarlatinæ* n'a aucune action pathogène sur les veaux ; sa présence sur la peau de l'homme est purement accidentelle ; il est peut-être même identique au *Bacillus subtilis*, si répandu. Enfin, le *Streptococcus rubiginosus* est identique au Microcoque décrit par Klein ; c'est le *Micrococcus pyogenes*.

Picheney (1) croit, comme Klein, pouvoir rattacher la scarlatine de l'homme à une affection de la vache, mais n'apporte aucune preuve concluante à l'appui de son opinion.

C'est encore un Streptocoque qu'incrimine Kurh (2) ; il le dénomme *Streptococcus conglomeratus*. On ne peut guère le considérer que comme une des variétés du Streptocoque pyogène.

Il en est de même du Streptocoque décrit par D'Epine (3).

On voit par ces données que l'étiologie de cette affection, si éminemment contagieuse et évidemment d'origine bactérienne, est encore loin d'être élucidée.

On observe souvent, dans le cours de la scarlatine, des infections secondaires, dues la plupart du temps à l'une ou à l'autre des espèces pyogènes ordinaires.

MICROCOCCUS DANS LA VARIOLE ET DANS LE VACCIN.

Coze et Feltz (4), en 1886, avaient reconnu que le sang des varioleux renfermait de très petites Bactéries réunies en chapelets. Ils en ont plus tard (5) précisé les caractères et les ont retrouvées dans la lymphe d'une pustule non purulente. A côté de *Micrococcus* de 0,4 μ de diamètre, ils signalent des *Bacilles* de 1,2 μ de longueur.

Cohn (6) a décrit, en 1872, sous le nom de *Micrococcus vaccinæ*, des Bactéries rondes, réunies en chaînes ou en petits amas, qu'il a rencontrées dans la lymphe des pustules vaccinales de l'homme et d'animaux ; il en a observé de semblables dans les capillaires du foie et du rein des varioleux.

Cette croyance à la nature bactérienne de la vaccine et partant de la variole avait été solidement appuyée par les expériences concluantes de Chauveau (7), qui, en 1868, avait démontré que le principe virulent du vaccin ne réside pas dans le liquide, mais uniquement dans les granulations qu'il tient en suspension. Du vaccin filtré sur porcelaine est toujours inoffensif.

(1) Picheney, Recherches sur l'origine bovine de la scarlatine (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CV, 1887, p. 677).

(2) Kurth, Ueber die Unterscheidung des Streptokokken, und über das Vorkommen derselben, inbesondere des Streptococcus conglomeratus, bei Scharlach (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, VII, 1891, p. 389).

(3) D'Épine, Le Streptocoque scarlatineux (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 6 mai 1895).

(4) Coze et Feltz, Recherches expérimentales sur la présence des infusoires et l'état du sang dans les maladies infectieuses. Strasbourg, 1866.

(5) Coze et Feltz, Recherches cliniques et expérimentales sur les maladies infectieuses. Paris, 1872.

(6) Cohn, *Virchow's Arch.*, LV, 1872.

(7) Chauveau, Nature du virus vaccin (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 10 et 24 février 1868).

Toutefois, il faut reconnaître qu'au point de vue bactériologique la question n'est pas plus avancée aujourd'hui; le microbe actif reste encore à découvrir.

Les diverses affections varioleuses, variole de l'homme, variole de la vache ou cowpox, variole du cheval ou horsepox, et même variole du mouton ou clavelée, sont-elles déterminées par un seul agent ou sont-elles des types pathologiques différents à tous points de vue? C'est là une question qui n'est pas encore tranchée (1).

Variole. — Cornil et Babès (2) trouvent des Microcoques dans les lacunes du corps muqueux des papules varioleuses.

Guttman (3) a isolé du contenu de pustules de variole les *Micrococcus pyogenes aureus* et *Micrococcus cereus albus*; des pustules de varicelle lui ont fourni en outre une troisième espèce nouvelle, *Micrococcus viridis flavescens*.

Marotta (4) a trouvé, dans le contenu d'une pustule de variole, un coccus disposé en tétrades, qu'il considère comme spécifique. Par inoculation de cultures pures de la septième génération à des veaux, il aurait obtenu des pustules vaccinales typiques. Les caractères des cultures rappellent tous ceux du *Micrococcus pyogenes aureus*; il y a certainement eu confusion.

Hlava (5) est arrivé aux mêmes résultats que Guttmann; il a isolé, de pustules de variole, les *Micrococcus pyogenes*, *M. pyogenes albus*, *M. viridis flavescens*, *M. cereus albus*. Nous savons qu'aucune de ces espèces ne peut être regardée comme spécifique.

Les résultats des recherches de Garré (6) sont plus sérieux, mais encore loin de trancher définitivement la question. Il a obtenu, de pustules de variole et de vaccine, un *Micrococcus* qui lui paraît spécifique et deux Bacilles en courts bâtonnets, n'ayant aucune action sur l'organisme.

Les coccus de la première espèce sont très petits et se cultivent facilement. Ils donnent sur gélatine une culture grisâtre épaisse, homogène; le milieu n'est pas liquéfié. Sur gélose, ils forment des taches d'un blanc sale mat, ne paraissant pas homogènes, mais formées par de petits flocons assemblés. Le lait est rapidement coagulé et le sérum solide liquéfié. L'inoculation de ces cultures au veau produit de belles pustules qui donnent les mêmes coccus; le vaccin ordinaire n'a plus de prise sur ces individus. Sur l'homme, on obtient de semblables pustules, mais aucune immunité pour le vaccin. Les injections sous-cutanées de ces cultures ne déterminent aucune inflammation.

Protopopoff (7) considère comme la Bactérie spécifique un Streptoco-

(1) Galli-Valerio, Affections varioleuses, état actuel des études sur les rapports qui existent entre elles (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 380 et 424).

(2) Cornil et Babès, Note sur le siège des Bactéries dans la variole, la vaccine et l'érysipèle (*Soc. méd. des hôp.*, 10 août 1883); — Les Bactéries, 3e éd., t. II, p. 255.

(3) Guttmann, Bacteriologische Untersuchungen des Inhaltes der Pockenpusteln (*Virchow's Arch.*, CVI, 1886, p. 296). — *Id.*, Bacteriologische Mittheilungen über Varicellen (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1886, p. 802).

(4) Marotta, Ricerche sul Microparassitica del vajuolo (*Rivista clinica e terapeutica*, VIII, nos 11 et 12, 1886).

(5) Hlava, Vysnam mikroorganismе pri variole (*Sbornik lekarsky*. Prag, 1887).

(6) Garré, Ueber Vaccine und Variola (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1887, nos 12 et 13).

(7) Protopopoff, Zur Bacteriologie der Variola (*Zeitschr. für Heilkunde*, XI, 1890, p. 151).

que qu'il a rencontré dans cinq cas d'orchite varioleuse, sur six qu'il a examinés. Cette espèce aurait, d'après lui, une culture dans le bouillon très particulière. Elle y formerait, dans le fond et sur les parois du vase, en deux ou trois jours, de petits flocons grisâtres composés de très longues chaînettes. C'est, je l'ai dit plus haut (p. 354), un aspect de culture que donne très souvent le *Streptocoque pyogène* lorsqu'on ensemence directement dans le bouillon le pus qui en contient, recueilli aseptiquement. C'est certainement cette dernière espèce qu'a cultivée Protopopoff. Les cultures perdent du reste très vite également leur virulence et même leur vitalité.

Sanfelice et Malato (1) ont trouvé, dans le contenu des pustules, surtout le *Micrococcus pyogenes aureus*, le *Micrococcus pyogenes albus*, puis plus rarement le *Micrococcus pyogenes citreus*, le *Pneumocoque* et le *Colibacille*.

Plusieurs observateurs ont décrit dans la lymphe des pustules de variole des Protozoaires qu'ils donnent comme pouvant être l'agent de contage de la maladie. Pfeiffer (2) a vu chez l'homme et les mammifères des organismes mesurant 9 μ de long, qu'il rapproche des Coccidies. Loeff (3) signale, dans deux cas de variole confluente, des corps amœbiformes nombreux dans le sang. Guarnieri (4) trouve aussi de petites Amibes qu'il dénomme *Cytoryctes variolæ*.

Salmon (5) et Huckel (6) ont démontré que ces formes de Guarnieri ne sont que des altérations des cellules migratrices ayant pénétré dans les cellules épithéliales de la cornée du lapin, organe choisi pour bien suivre l'évolution de la lésion; de semblables figures se rencontrent aussi, du reste, dans les cellules épidermiques soumises aux mêmes influences.

Catterina (7) arrive à la même conclusion pour les éléments similaires qu'il a rencontrés dans le liquide des pustules de varicelle.

En résumé, dans la variole comme dans la scarlatine, on isole surtout des Bactéries pyogènes. Elles semblent jouer un grand rôle dans la marche et la destinée de cette affection si contagieuse; mais ce rôle n'est pas précisé; il ne paraît jusqu'ici que secondaire. L'agent de contage reste encore à découvrir.

Quist (8) dit avoir cultivé du vaccin dans du sérum de sang de bœuf, additionné de glycérine; il se développait, au bout de huit à dix jours, une fine pellicule, formée de Microcoques. L'inoculation à l'enfant du produit de cette culture a donné une pustule vaccinale et conféré

(1) Sanfelice et Malato, Studien über die Pocken (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1898, p. 641).

(2) Pfeiffer, Ein neuer Parasit der Pockenprocess aus der Gattung Sporozoa. Weimar, 1887.

(3) Loeff, Ueber Proteiden oder Amoeben bei Variola vera (*Monatshefte für prakt. Derm.*, 1887, nº 10).

(4) Guarnieri, Ricerche sulla pathogenesi ed etiologia della infezione vaccinica e vainolosa (*Archivio per le scienze mediche*, XVI, 1892).

(5) Salmon, Recherches sur l'infection dans la vaccine et la variole (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 289).

(6) Huckel, Die vaccinekörperchen, nach Untersuchungen an der geimpften Hornhaut des Kaninchen (*Ziegler's Beitr.*, 1898).

(7) Catterina, Contributo all' anatomia patologica ed all' eziologia della varicella (*Atti d. Soc. venetotrentina*, III, 1898).

(8) Quist, *Petersburger med. Wochenschr.*, 1883, nº 46.

l'immunité pour le vaccin. Aucune observation n'a pu confirmer ces résultats.

Voigt (1) a isolé du vaccin trois espèces de *Micrococcus*. La première ne liquéfie pas la gélatine : ce sont des coccus souvent réunis par deux, donnant, en cultures sur plaques, des colonies grisâtres circulaires. En piqûre sur gélatine, elle forme une mince pellicule à la surface et un léger trouble dans le canal. L'inoculation d'une culture pure confère au veau l'immunité pour le cowpox. La seconde espèce, qui n'est pas constante, est formée de grands coccus, qui produisent une culture grenue, verdâtre, liquéfiant la gélatine. Enfin, il signale une dernière espèce, qu'il a retrouvée dans la varicelle et qui paraît n'avoir aucune propriété pathogène, dont les cultures liquéfient aussi la gélatine.

Vaccine. — Il est très probable que les expériences de Tenholt (2) sont aussi entachées de causes d'erreur. Il a reconnu, dans de la lymphe vaccinale, la présence d'une douzaine de *Micrococcus*, de deux Bacilles et de deux Levures. Pour le *vaccin*, on a aussi signalé des Sporozoaires. Pfeiffer, Loeff, Guarnieri ont trouvé des corps amœbiformes dans le liquide vaccinal ; Guarnieri a aussi décrit un *Cytoryctes vaccinæ* ; on a vu plus haut ce qu'il en fallait penser, malgré l'appui donné à son opinion par Wasiclewski (3). Depuis, d'ailleurs, Pfeiffer (4) est revenu sur son opinion ; parmi les nombreux organismes qu'il a rencontrés dans la lymphe de pustule vaccinale, il signale en outre une Levure à cellules arrondies ou ellipsoïdes mesurant de 1,5 µ à 4,5 µ, qu'il nomme *Saccharomyces vaccinæ*, sans rien pouvoir préjuger de son action. Il a reconnu en outre les *Sarcina lutea* et *Sarcina aurantiaca*, communes dans l'air, et deux autres Sarcines dont les caractères sont très peu nets ; un Bacille en courts bâtonnets, formant des colonies rappelant celles du *Proteus vulgaris* de Hauser ; le *Micrococcus pyogenes aureus* et le *Micrococcus cereus albus*, de beaucoup le plus fréquent dans le liquide vaccinal.

Les recherches de Maljean (5) paraissent plus concluantes. Elles en sont cependant encore à attendre confirmation. Dans les pustules vaccinales typiques et dans la pulpe vaccinale glycérinée, il dit rencontrer toujours, à côté d'espèces pyogènes ou saprophytes connues, un Microcoque donnant des cultures d'un blanc éclatant qu'il considère comme spécifique. Il l'a aussi retrouvé, presque constamment, dans le sang des papules de la *vaccine rouge*.

D'après lui, c'est un Microcoque un peu plus gros que le *Staphylocoque doré*. Les coccus sont isolés, en Diplocoques ou en petits amas, rarement en courtes chaînes. Ils se colorent facilement aux couleurs d'aniline et *restent colorés* par la méthode de Gram.

Les cultures poussent facilement à 33°-38°, difficilement à 20°-22°, ce qui fait qu'il est difficile d'employer les plaques de gélatine pour isoler

(1) Voigt, *Deutsche med. Wochenschr.*, 24 décembre 1885.

(2) Tenholt, Die Bacterien der Kälberlymphe (*Correspondenzbl. der allg. artzlichen Vereins von Thüringen*, 1887, n° 6).

(3) Wasiclewski, Ueber die Form und Färbbarkeit der Zelleinschlüsse bei Vaccine impfungen (Cytoryctes vaccinæ) (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 901).

(4) Pfeiffer, Die bisherigen Versuche zur Reinzüchtung der Vaccinecontagium (*Zeitschr. für Hygiene*, III, 2e p., p. 189).

(5) Maljean, Recherches sur les microbes du vaccin et en particulier sur les coccus de la vaccine rouge (*Gaz. hebd.*, 1893, p. 282 et 283).

le microbe. C'est un anaérobie facultatif; mais il pousse mieux en présence d'air.

Sur *gélatine*, la culture est pénible et minime à cause de la basse température qu'il faut employer.

Dans le *bouillon*, le développement est rapide à 35°. Le liquide se trouble au bout de vingt-quatre heures et dépose des petites écailles blanches sur les parois du tube à la surface. En quelques jours, il s'est formé un voile incomplet, d'un blanc éclatant, qui tombe par lambeaux et se reproduit indéfiniment. Au fond, se forme un dépôt blanc visqueux. Le bouillon garde pendant plus d'un mois une réaction franchement alcaline et finit par prendre une odeur spéciale assez fétide. Quand le liquide est additionné de lactose et de carbonate de chaux, il fermente rapidement et dégage une grande quantité de bulles de gaz.

Sur *gélose*, il se produit au bout de vingt-quatre heures des colonies arrondies, plates, d'un blanc éclatant.

Sur *sérum*, les colonies ressemblent aux précédentes.

Sur *pomme de terre*, la culture forme tantôt une mince bande d'un blanc de lait, tantôt un semis de petites saillies blanches, arrondies.

Le *lait* ne présente pendant les premiers jours aucun changement visible ; au bout d'une semaine, il est coagulé et montre une réaction acide.

Toutes les cultures deviennent visqueuses et filantes. Elles conservent très longtemps leur activité.

En injection sous-cutanée, chez le lapin et la souris, les bouillons de culture déterminent la formation d'un petit nodule dur au point d'inoculation. Le centre du nodule contient une petite quantité d'une sorte de pus blanc, épais, dans lequel se retrouve le microbe en question. Souvent ce nodule s'indure, ne montre pas de tendance à s'ouvrir et se détache d'une seule pièce comme une escarre.

En inoculant des génisses avec des cultures pures, suivant les procédés usités pour le vaccin, Maljean a obtenu, après deux passages, de belles pustules dont le contenu a pu être récolté pour servir à des expériences sur l'homme. Le contenu de ces pustules ne renfermait que le Micrococque inoculé.

La pulpe vaccinale ainsi préparée, employée chez un assez grand nombre d'hommes adultes, a donné une forte proportion (jusqu'à 75 p. 100) de succès ; elle a produit des éruptions vaccinales typiques.

Sabrazès et Joly (1) ont isolé du vaccin de génisse un *Streptothrix* qui leur paraît spécial.

Les recherches de nombreux autres observateurs (2) ont également

(1) Sabrazès et Joly, Sur un nouveau *Streptothrix* fréquemment isolé du vaccin de génisse (*Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898).

(2) Pfeiffer, Die neueren seit 1887 vorgenommenen Versuche zur Reinzüchtung des Vaccinecontagium (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIII, p. 306). — Saquépée, Étude sur la flore bactérienne du vaccin. Thèse de Lyon, 1896. — Lemoine, Contribution à l'étude bactériologique de la pulpe vaccinale glycérinée (*Revue d'hyg.*, 1897, p. 732). — Kent, The virus of vaccinia and its cultivation (*Lancet*, 21 mai 1898). — Kirchner, Ueber den Keimgehalt animaler Lymphe (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIV, 1897, p. 530). — Deeleman, Ueber den Bakteriengehalt der Schutzpockenlymphe (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, XIV, 1898, p. 88). — Migula, Der Keimgehalt und die Widerstandfähigkeit der Bakterien der animalen Lymphe (*Arb. aus dem bakt. Inst. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe*, II, 1898, p. 65). — Panzelow et Czaplewski, Beiträge zur Lehre von der Staphylokokken der Lymphe (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 141).

permis de constater dans le vaccin la présence de plusieurs formes microbiennes, Microcoques ou Bacilles. Elles n'ont pu, toutefois, arriver à faire reconnaître parmi elles un microbe réellement spécifique. Mais, en plus, elles tendent à faire penser que les microbes constatés paraissent être tous de purs saprophytes; quelques similitudes de caractères ont pu faire croire à la présence de microbes pyogènes cités précédemment; la lymphe vaccinale pure, non purulente, n'en renfermerait jamais. En outre, l'addition de glycérine, que l'on pratique d'ordinaire, amène une disparition graduelle des microbes existants, tout en respectant la virulence spéciale; de telle sorte qu'au bout de quatre mois, un tel vaccin, bien que très actif, se montre totalement dépourvu des microbes constatés au début.

Ces expériences demandent toutefois à être reprises et étendues. On comprend, en effet, la grande utilité qu'il y aurait à vacciner avec les cultures pures; outre la facilité plus grande d'obtenir du vaccin, on écarterait du coup toute chance d'infection étrangère.

MICROCOCCUS DANS LA ROUGEOLE.

Coze et Feltz, dans leur ouvrage précité, signalent, dans le sang d'enfants malades de la rougeole, la présence de petites Bactéries très mobiles. Ces *points mobiles* s'observent surtout, d'après eux, dans le sang pris en un point du corps où l'éruption existe; ils sont bien moins nombreux dans le sang recueilli aux parties indemnes.

Cornil et Babès (1) ont trouvé dans le sang des *Micrococcus* ronds de 0,6 μ de diamètre, réunis souvent en Diplocoques ou en petits chapelets; ils en ont rencontré d'identiques dans les sécrétions nasale et conjonctivale. Les mêmes Bactéries existaient dans les crachats d'enfants atteints de pneumonie rubéolique. Dans les poumons de sujets morts de cette complication si fréquente, le contenu alvéolaire renferme des quantités de Diplocoques.

Du sang recueilli au niveau des taches de l'exanthème donne, sur sérum, d'après ces auteurs, une culture mince, superficielle, ressemblant à celle du *Micrococcus pyogenes*. Cette culture est formée de coccus en chaînettes. Une inoculation d'une parcelle de cette culture sous la peau du nez d'un cobaye a produit des rougeurs diffuses, de la fièvre et une légère conjonctivite.

Canon et Pielicke (2) ont observé dans le sang des rubéoleux, pendant toute la durée de la maladie et même après la défervescence, un fin Bacille, se colorant difficilement avec la solution de Loeffler, se décolorant par la méthode de Gram. Il pousse très peu dans le bouillon peptonisé ensemencé directement avec le sang, et pas du tout sur les autres milieux. Les inoculations aux animaux ne leur ont rien donné. Ils l'ont retrouvé en abondance dans l'expectoration, dans les sécrétions nasale et conjonctivale des mêmes malades.

Doehle (3) et Pfeiffer (4) ont aussi signalé dans le sang des malades

(1) Cornil et Babès, Les Bactéries, 3e éd., t. II, p. 284.

(2) Canon et Pielicke, Ueber einen Bacillus im Blute vom Maserkranken (*Berlin. klin. Wochenschr.*, XXXIX, 1892, p. 577).

(3) Doehle, Vorläufige Mittheilung über Blutbefunde bei Masern (*Centralbl. für allg. Path.*, 1892, n° 4). Et : Zur Aetiologie von Masern Pocken, Scarlach, Syphilis (*Centralbl. für Bakt.*, XII, 1892, p. 906).

(4) Pfeiffer, Die Zellerkrankungen durch Sporozoen. Iéna, 1893.

la présence de Protozoaires, simples corps amœbiformes ou corps munis de prolongements filiformes, dont la signification est toujours problématique.

Ce sont là les seules données sérieuses que l'on possède sur cette affection, une des plus contagieuses assurément. Ici aussi, les microbes pyogènes semblent jouer le rôle prépondérant, surtout dans les complications si ordinaires de l'affection, la broncho-pneumonie rubéolique en particulier.

MICROCOCCUS DANS LES OREILLONS.

Charrin et Capitan (1) ont signalé, dès 1881, la présence de Microcoques dans le sang de malades atteints d'oreillons.

Laveran et Catrin (2) ont isolé du sang ou du liquide de ponction de la parotide ou du testicule atteint d'orchite ourlienne, des Diplocoques à éléments arrondis, mesurant de 1 μ à 1,5 μ de diamètre, bien mobiles, se colorant facilement aux couleurs d'aniline et se *décolorant* par la méthode de Gram.

Ils en ont obtenu facilement des cultures sur les milieux habituels.

Le *bouillon* se trouble en vingt-quatre heures à 35° et, au bout de quelques jours, il se forme un dépôt minime sur les parois et surtout au fond du vase.

Sur *plaques de gélatine*, on distingue, au bout de quarante-huit heures, de petites colonies punctiformes blanches qui se développent lentement et ne liquéfient que tardivement.

Sur *gélatine*, en *piqûre*, tout le long de la piqûre il se développe de petits points blancs qui confluent bientôt ; à la surface, il se forme un petit disque blanc. Au bout de quelques jours, la gélatine se creuse à la partie supérieure et se liquéfie très lentement.

Sur *gélose* à 35°, il se forme une bande blanche le long de la strie.

Sur *pomme de terre*, la culture est blanchâtre, peu apparente.

Les inoculations aux animaux n'ont donné aucun résultat.

Laveran et Catrin ont rencontré ce Micrococque soixante-sept fois sur quatre-vingt-douze cas, dans le sang ou la sérosité de la parotide ou du testicule malade, deux fois dans l'arthrite ourlienne.

Letzerich (3) a isolé du sang et de l'urine de sujets atteints d'oreillons un Bacille court et large, ne se colorant bien qu'aux deux pôles, donnant une culture sèche et mate sur pomme de terre. Il le considère comme l'agent spécifique de l'affection.

MICROCOCCUS DANS LE SCORBUT.

Afanasieff (4) signale dans le pus d'abcès sous-cutanés un coccus encapsulé qui se décolore au Gram et croît facilement sur les milieux habituels.

Il ne liquéfie pas la gélatine ; il rend le bouillon très visqueux, à tel

(1) Charrin et Capitan, *Soc. de Biol.*, 28 mai 1881.

(2) Laveran et Catrin, Sur un Diplocoque trouvé chez des malades atteints d'oreillons (*Soc. de Biol.*, 28 janvier 1893).

(3) Letzerich, *Allg. med. Centr. Zeit.*, 21 August 1895.

(4) Afanasieff, Recherches bactériologiques sur le scorbut (*Wratsch*, 1896, p. 133).

point qu'on peut presque retourner le tube sans que le liquide s'écoule; il coagule faiblement le lait et produit des gaz aux dépens du glucose.

Il n'est pathogène pour le lapin qu'en injections massives; on observe alors parfois la production de suffusions sanguines dans le tissu conjonctif sous-cutané et les organes internes.

MICROCOCCUS DANS LA RAGE.

Pasteur et Gibier (1) ont cru reconnaître des *Micrococcus* mobiles dans la substance cérébrale d'animaux morts de la rage.

Hermann Fol (2) a décrit, dans des moelles rabiques colorées à l'hématoxyline par la méthode de Weigert, des Microcoques de 0,2 μ, souvent associés par deux, logés dans les lacunes de la névroglie ou entre les cylindraxes et leur gaine. La moelle ensemencée dans du bouillon a produit un très léger trouble, qui se dépose au quatrième jour. Le dépôt, inoculé à des animaux sains, leur aurait transmis, dans quelques cas seulement, une véritable rage, mais à incubation très longue.

Babès (3) a réussi à cultiver un *Micrococcus* de 0,4 μ à 0,6 μ, qui se développe lentement à 37° et forme sur gélatine et sur gélose de petites taches grisâtres le long de la strie d'inoculation. Les coccus, souvent unis par deux, sont difficiles à colorer. Des cultures pures de deuxième et troisième génération, inoculés aux animaux, leur donnent la rage. A côté de ces *Micrococcus*, il a rencontré des *Bacilles* légèrement courbes, mesurant 2 à 3 μ de long, sur 0,6 μ de large.

Mottet et Protopopoff (4) ont isolé du cerveau et de la moelle rabique une Bactérie en très fins bâtonnets, qu'ils regardent comme spécifique. On la rencontre abondamment dans la sérosité trouble des ventricules du cerveau des chiens porteurs de la rage des rues et des chiens inoculés. Elle se cultive dans le bouillon de viande vers 35°, qui se trouble déjà à la fin du deuxième jour. Le liquide est régulièrement trouble, sans flocons; il y reste deux ou trois semaines, puis il se forme un léger dépôt et il s'éclaircit. Les cultures sur gélatine et sur gélose ne réussissent pas. Les lapins inoculés par trépanation avec de ces cultures meurent en douze heures avec les symptômes de la rage paralytique; leur moelle transmet une rage identique à des lapins sains. L'inoculation sous la peau occasionne la mort, de deux à six jours, avec les mêmes symptômes que la trépanation. Des chiens inoculés par trépanation avec la moelle de ces lapins meurent en six ou sept jours de rage paralytique. Ces résultats n'ont pas été confirmés.

Memmo (5) vient d'isoler des centres nerveux de chiens morts de rage une Levure qu'il a obtenue en cultures pures. L'inoculation intracranienne ou intra-oculaire de ces cultures déterminerait chez le chien,

(1) Gibier, Thèse de Paris, 26 juillet 1884, et *C. R. de l'Acad. des sc.*, XCVI, 1883.

(2) H. Fol, Sur le microbe dont la présence parait liée à la virulence rabique (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 14 décembre 1885).

(3) Babès, *in* Cornil et Babès, Les Bactéries, 3e éd., t. II, p. 526, et Notes sur la rage expérimentale (*Journ. des conn. méd.*, 1887, p. 162).

(4) Mottet et Protopopoff, Ueber einen Mikroben, der bei Kaninchen und Hunden eine der paralytischen Tollwuth ganzähnlich Krankheit hervorruft (*Centralbl. für Bakt.*, II, 1887, p. 585).

(5) Memmo, Beiträge zur Aetiologie des Rabies (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 209).

après une incubation de trente à soixante jours, une affection qui lui paraît être la rage, surtout la forme paralytique.

Cependant, les expériences de Nocard (1880) et P. Bert (1882) démontrent qu'en filtrant sur plâtre de la salive de chien rabique le liquide qui passe est dépourvu de virulence et que celle-ci se retrouve entière dans ce qui reste sur le filtre. Elle serait donc bien due à des éléments solides en suspension.

L'agent contagieux n'est cependant pas répandu dans tout l'organisme, même à la période ultime.

On sait depuis longtemps que la salive est virulente. C'est par son intermédiaire que se fait d'ordinaire la contagion. Elle l'est même très tôt ; les recherches de Nocard et Roux (1) établissent que, chez le chien, elle peut déjà l'être trois jours avant l'apparition de tout changement dans les allures de l'animal.

Le cerveau et la moelle sont toujours virulents lorsque les animaux présentent des symptômes paralytiques; si les animaux périssent très tôt, cette virulence peut faire défaut. Le bulbe est toujours virulent, le liquide encéphalo-rachidien aussi. Dans les nerfs, la virulence est plus irrégulière et se rencontre surtout dans les portions voisines des centres.

Le sang n'est jamais virulent ; la lymphe de même.

Le muscle, le foie, la rate, l'urine, le sperme, l'humeur aqueuse, ne sont jamais virulents

Les glandes lacrymales, le pancréas renferment quelquefois le contage.

Le lait est très souvent virulent.

La plupart des animaux sauvages ou domestiques sont réceptifs ; les oiseaux sont à peu près réfractaires.

ESPÈCES CHROMOGÈNES.

MICROCOCCUS PRODIGIOSUS Ehrenberg.

Cette dénomination ne se trouve placée ici que pour mémoire. L'espèce *Micrococcus prodigiosus* ne se sépare que bien difficilement de certains types à courts bâtonnets rentrant dans le genre *Bacillus* ; d'un autre côté, on doit reconnaître la tendance qu'elle présente à donner des éléments allongés dans certaines conditions ; de là vient qu'on la décrit souvent sous le nom de *Bacillus prodigiosus*. Il y a certainement avantage à réunir l'étude de toutes ces formes bien voisines. C'est la raison pour laquelle l'étude de ce type sera faite dans le genre *Bacillus* sous la dénomination précitée de *Bacillus prodigiosus*.

MICROCOCCUS FULVUS Cohn.

C'est une espèce dont les caractères ne sont pas encore suffisamment précisés. Elle a été observée par Cohn (2) sur les excréments de cheval et de lapin, à la surface desquels elle formait de petites gouttes

(1) Nocard et Roux, A quel moment le virus rabique apparait-il dans la bave des animaux enragés ? (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, p. 163).

(2) Cohn, Untersuchungen über Bacterien, II (*Beitr. zür Biol. der Pflanzen*, 1er vol., 3e p., 1875).

muqueuses, bombées, de coloration rougeâtre, parfois légèrement rosée. Ces gouttelettes s'étendent, en vieillissant, à la surface du milieu nutritif, et arrivent à former une couche muqueuse continue.

Les cellules immobiles sont presque régulièrement sphériques, atteignant 1,5 μ de diamètre, et posséderaient, d'après Cohn, un noyau réfringent.

La matière colorante est insoluble dans l'eau ; elle ne change ni par les acides ni par les alcalis.

Il ne liquéfierait pas la gélatine.

MICROCOCCUS ROSEUS Flugge.

Il est très commun dans l'air et s'observe fréquemment comme impureté, à la surface des cultures sur plaques.

Ce sont de gros coccus réunis par deux ou en tétrades, quelquefois en petites chaînes de trois éléments; ils sont habituellement asymétriques, les faces d'union des éléments d'un couple sont nettement aplaties. Ils mesurent en moyenne 1,4 μ de plus grand diamètre.

Ce *Micrococcus* forme à la surface des plaques de gélatine de petits boutons rosés, souvent mamelonnés au centre. Les colonies s'élargissent lentement et atteignent 1 à 3 millimètres de large après quelques jours. Le mamelon central peut croître en même temps et donner un petit prolongement digitiforme droit ou courbé. La gélatine *n'est pas liquéfiée.*

Inoculé en strie sur gélatine ou gélose, il donne, au bout de peu de temps, une bande plus large à sa partie inférieure, d'une belle teinte rosée, à bords transparents blanchâtres, laissant souvent voir des stries concentriques plus claires. La surface est lisse, comme vernissée. La gélatine est légèrement ramollie dans ses couches superficielles et souvent très lentement liquéfiée. Le liquide est teinté de rouge, mais est beaucoup plus vermillon qu'avec le *Micrococcus prodigiosus*. La culture développe une faible odeur fécaloïde.

Il existe certainement plusieurs espèces, à caractères très voisins, qui sont confondues sous ce nom. Le *Micrococcus agilis*, d'Ali-Cohen (1), est de celles-ci.

Le *Micrococcus rouge-cerise* de List en est bien voisin. C'est une Bactérie isolée de l'eau. Les éléments sphériques sont très petits, de 0,25 à 0,32 μ de diamètre ; ils sont unis en Diplocoques ou en longues chaînettes. Sur gélose et sur pomme de terre, la culture donne un large revêtement rouge-cerise et ne développe aucune odeur. La matière colorante est insoluble dans l'eau, l'alcool et l'éther, et ne se modifie pas sous l'influence des acides ou des alcalis.

Très voisin également est le *Micrococcus carneus* de Zimmerman, qu'on doit très probablement identifier au *Coccus rouge* (*Rother coccus*) de Maschek, espèce commune de l'eau. Ce sont des coccus immobiles, de 0,83 μ de diamètre, réunis en petits amas ou en tétrades. En culture sur plaques, les colonies qui arrivent à la surface de la gélatine sont rougeâtres, discoïdes; le centre, plus sombre, est entouré d'une zone

(1) Ali-Cohen, Eigenbewegung bei Mikrokokken (*Centralbl. für Bakt.*, VI, 1889, p. 33).

annulaire plus claire. La gélatine n'est pas liquéfiée. Sur gélose, on obtient une culture rouge rosé ou rouge-chair. La culture sur gélatine reste plus mince; celle sur pomme de terre est abondante. C'est une espèce à rapprocher peut-être plus de la suivante.

MICROCOCCUS CINNABAREUS Flugge.

C'est encore une Bactérie de l'air, contaminant fréquemment les cultures, se rencontrant probablement aussi dans l'eau.

D'après Flügge, les éléments sont gros : d'après mes cultures, ces coccus mesurent 0,9 μ de largeur; ils sont d'habitude réunis en Diplocoques, parfois en tétrades, ou en petits amas. Leur forme est ovoïde irrégulière; un des côtés, celui qui touche à l'autre élément du couple, est aplati.

Les colonies sur plaques sont peu caractéristiques. Ce sont de petits boutons d'un rouge terne. Elles ne liquéfient pas la gélatine.

Inoculé en piqûre, dans un tube de gélatine, il ne se développe bien qu'aux endroits en contact avec l'air; il forme à la surface un bouton aplati, d'un rouge-brique un peu rosé, qui se continue dans la gelée par une courte tige de même nuance; dans le reste du trajet de la piqûre, on n'observe qu'un développement peu apparent de petites colonies teintées en jaune rouge, arrondies. J'ai observé la liquéfaction de la gelée, mais après un temps parfois très long : le liquide est trouble et laisse déposer un sédiment rouge ocracé.

En strie sur gélatine et surtout sur gélose, il donne une large colonie en forme de spatule, d'abord d'un rouge-brique un peu jaunâtre, puis teintée de rose tendre, à bords sinueux et à surface verruqueuse. La substance de la colonie est molle, peu cohérente, se séparant facilement et se dissociant très vite dans un liquide.

Il produit dans le bouillon un trouble persistant et un dépôt rouge-brique, très cohérent et visqueux; le liquide garde une certaine viscosité.

Les cultures développent une odeur fade, douceâtre; les vieilles sont toutes très visqueuses.

Le *Micrococcus cinnabarinus* de Zimmerman ne peut pas en être distingué; également peut-être le *Micrococcus corallinus* de Catani (1).

MICROCOCCUS AURANTIACUS Schroeter.

Il forme sur tous les milieux nutritifs solides des taches circulaires, peu proéminentes, colorées en jaune orangé. C'est une des espèces les plus communes de l'air; elle s'observe journellement sur les plaques. Elle se rencontre fréquemment dans l'eau.

Les cellules sont elliptiques de 1,5 μ de grand diamètre, légèrement mobiles, isolées ou réunies par deux ou quatre; le plus souvent elles forment de gros Diplocoques à éléments asymétriques. Sur les milieux solides, il forme une couche jaune assez épaisse et sur le bouillon une mince pellicule de même nuance. Sur pomme de terre, il donne de petites calottes sphériques, d'un orange sombre. La matière colorante,

(1) Catani, Ueber einen neuen chromogenen Micrococcus (*Centralbl. für Bakt.*, XXXII, 1898, p. 308).

d'après Schroeter (1), est incomplètement soluble dans l'eau, l'alcool et l'éther.

Les colonies en cultures sur plaques sont rondes ou elliptiques, à bords nets, à surface lisse et brillante, finement ponctuées au microscope. Elles ne liquéfient pas la gélatine.

MICROCOCCUS LUTEUS Schroeter.

On le trouve fréquemment sur les milieux nutritifs solides exposés à l'air. Il forme, sur les tranches de pommes de terre, de petites masses muqueuses d'un jaune-citron, qui se dessèchent un peu en donnant un petit dôme. Il liquéfie la gélatine et forme à la surface du bouillon une membrane épaisse qui se plisse au bout de peu de temps.

Les coccus sont elliptiques, très réfringents et mesurent en moyenne 1 μ.

La matière colorante est insoluble dans l'eau; les acides et les alcalis sont sans action sur elle.

Adametz (2) a décrit sous le nom de *Diplococcus luteus* une espèce différente de celle de Schroeter.

Ce sont des coccus longs de 1,2 à 1,3 μ réunis par deux, très mobiles; dans les liquides, ils forment des voiles constitués par des chaînettes d'une dizaine d'éléments, montrant des mouvements de reptation.

Les colonies, en cultures sur plaques, sont arrondies, jaune, d'une consistance filante. Ces colonies, vues à un faible grossissement, sont granuleuses, et ont le centre jaune brunâtre. Elles atteignent facilement 3 millimètres de diamètre et liquéfient lentement le milieu.

En piqûre dans la gélatine, le développement est rapide, mais ne se fait qu'à la surface. On obtient un disque jaune-citron, de consistance muqueuse; la gelée qui se trouve au-dessous se colore fortement en brun rouge. La liquéfaction se fait lentement, après plusieurs semaines.

Sur gélose, la culture est jaune, filante, et colore aussi la gelée en brun.

La culture sur pomme de terre est d'un jaune sale, devenant brunâtre avec l'âge, et dégage une odeur de moisi.

Cette espèce précipite la caséine du lait.

C'est très probablement cette dernière Bactérie que Zimmermann (3) a isolée de l'eau de Chemnitz et nommée *Micrococcus sulphureus*. Cependant, la culture sur pomme de terre est un peu différente; elle ne forme que de petits îlots minces, jaunes.

Il faut aussi y rapporter le *Micrococcus agilis citreus* de Menze (4).

MICROCOCCUS FLAVUS LIQUEFACIENS Flugge.

On l'observe fréquemment à la surface des cultures sur plaques, où il forme des colonies jaunâtres s'enfonçant dans la gélatine. La gélatine se liquéfie bientôt tout autour d'elles et la masse prend une teinte franchement jaune. Lorsque la colonie a atteint de 4 à 6 millimètres de

(1) Schroeter, Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmenten (*Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, I, 2e p.).
(2) Adametz, Die Bacterien der Trink-und Nutzwässer. Wien, 1888.
(3) Zimmermann, Die Bacterien unserer Trink-und Nutzwässer. Chemnitz, 1890.
(4) Menze, Ueber einen Micrococcus mit Eigenbewegung, Micrococcus agilis citreus (*Centralbl. für Bakt.*, XII, 1892, p. 49).

diamètre, on y distingue un amas central opaque et une zone annulaire extérieure formée d'amas de Microcoques; l'anneau est relié au centre par des tractus déliés, de sorte que le tout rappelle assez bien l'aspect d'une roue de voiture.

Inoculé en piqûre dans un tube de gélatine, on voit se développer, au bout de quarante-huit heures, une colonie jaune. La liquéfaction se fait rapidement; le liquide est clair et montre un sédiment jaune épais.

Sur pomme de terre, on obtient un épais revêtement jaune brillant.

Les coccus sont gros, immobiles; réunis par deux ou en plus grand nombre.

MICROCOCCUS FLAVUS DESIDENS Flugge (1).

C'est encore une espèce de l'air dont les éléments spécifiques assez petits sont en Diplocoques ou en courtes chaînettes.

Dans les cultures sur plaques, les colonies qui se développent à la surface sont arrondies, à bords sinueux, d'une coloration jaune légèrement brunâtre; elles peuvent atteindre 1 centimètre de diamètre. La gélatine ne se liquéfie pas à proprement parler, mais se ramollit et en même temps la colonie s'enfonce dans le substratum, montrant autour d'elle un cercle de dépression assez large.

En piqûre dans la gélatine, on obtient, à la surface, une membrane jaune, gluante, et, dans le canal, une masse blanchâtre. La gélatine se ramollit, puis se liquéfie lentement; la colonie tombe au fond en formant un sédiment jaune.

La culture sur pomme de terre donne une pellicule muqueuse jaune brunâtre.

MICROCOCCUS FLAVUS TARDIGRADUS Flugge.

Il s'observe dans les mêmes conditions que les précédents, mais plus rarement qu'eux.

Il forme, à la surface des plaques de gélatine, des colonies rondes, de 1/2 à 1 millimètre de diamètre, d'une couleur jaune de chrome foncé, à surface lisse, vernissée, bombant légèrement sur la gélatine. La gélatine ne subit aucune liquéfaction.

Inoculé en piqûre sur gélatine, il est long à se développer et ne donne que quelques petites colonies jaunes globuleuses.

Les cellules sont sphériques, d'un diamètre assez fort, isolées ou formant de petits amas.

MICROCOCCUS DIFFLUENS Schroeter (2).

L'espèce a été isolée de la poussière et d'excréments; elle doit être commune dans l'air.

Les cellules elliptiques mesurent environ 1,5 μ de long sur 1 μ de large. Elles forment sur les milieux solides des masses muqueuses d'un blanc sale légèrement jaunâtre. Cette Bactérie ne liquéfie pas la

(1) Flugge, Die Mikroorganismen, trad. franç. par Henrijean, 1887.
(2) Schroeter, Kryptogamenflora von Schlesien, III, v, p. 144.

gélatine ; inoculée en strie, elle forme de chaque côté des prolongements d'apparence foliacée. La gelée environnante est colorée en jaune avec une fluorescence verdâtre. Le pigment est soluble dans l'eau ; les acides le décolorent, les alcalis ne le modifient pas. A rapprocher peut-être du *Bacillus fluorescens putridus*.

MICROCOCCUS VERSICOLOR Flugge (1).

C'est une Bactérie de l'air, qui vient fréquemment contaminer les cultures sur plaques. Elle y forme, à la surface de la gélatine, une couche visqueuse jaune verdâtre, à reflets nacrés, pouvant atteindre jusque 1 centimètre de diamètre, de forme quadrangulaire irrégulière, à bords sinueux. Le centre est fréquemment surélevé. Les colonies qui se développent dans la profondeur de la gélatine sont circulaires, jaunâtres, finement granuleuses.

En piqûre, ce *Micrococcus* donne à la surface une pellicule jaunâtre nacrée, à bords irréguliers. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Les cellules, rondes, d'assez faible diamètre, sont disposées en Diplocoques ou en petits amas.

MICROCOCCUS CYANEUS Schroeter (2).

Il a été rencontré sur des pommes de terre cuites exposées à l'air. Il y forme une mince pellicule d'un bleu de cobalt. La matière colorante pénètre dans le substratum et lui communique sa nuance; elle est soluble dans l'eau, vire au rouge-carmin lorsqu'on la traite par les acides et est ramenée au bleu par les alcalis.

MICROCOCCUS PSEUDO-CYANEUS Cohn (3).

Comme la précédente, cette espèce croît sur les pommes de terre cuites et dans les solutions minérales. Elle produit un pigment d'abord vert-de-gris, qui peut garder cette nuance ou devenir d'un bleu verdâtre ou bleu. Traité par les acides, il devient rouge et est ramené par les alcalis à sa nuance primitive.

Les caractères morphologiques de cette espèce, comme ceux de la précédente, ne sont pas suffisamment connus; ces deux espèces sont peut-être à rapprocher de certains Bacilles chromogènes.

ESPÈCES FERMENTS OU A ACTION INDIFFÉRENTE.

MICROCOCCUS UREÆ Van Tieghem.

Pasteur en a signalé la présence dans l'urine en 1862 (4), en lui attribuant dès ce moment la fermentation ammoniacale de ce liquide.

(1) Flugge, Die Mikroorganismen, trad. franç. par Henrijean. Paris, 1887.
(2) Schroeter, Kryptogamenflora von Schlesien. Pilze, 1886, p. 145.
(3) Schroeter, Kryptogamenflora von Schlesien. Pilze, 1886, p. 145.
(4) Pasteur, Mémoires sur les corpuscules organiques de l'atmosphère (*Ann. des sc. nat., Zool.*, 1861).

Van Tieghem (1) en a précisé plus tard les conditions de développement. D'après Miquel (2), plusieurs espèces de Microcoques et un assez grand nombre de Bacilles pourraient être les agents de cette fermentation ammoniacale; il décrit sous le nom d'*Urococcus* jusqu'à neuf espèces de ces *Micrococcus* ferments de l'urée, espèces dont plusieurs doivent se rapporter à des types déjà connus et dont l'action sur l'urée a passé inaperçue jusqu'ici.

Les cellules sont sphériques, mesurant de 1 μ à 1,5 μ de diamètre, réunies souvent en Diplocoques et en tétrades, plus fréquemment en longues chaînes sinueuses. Cultivée dans de l'urine stérilisée et neutralisée, cette espèce se développe rapidement; le liquide est bientôt envahi par les chapelets, tout en conservant sa transparence. Il se forme, au fond un dépôt blanchâtre, qui augmente au fur et à mesure que la fermentation s'accomplit; ce dépôt est composé de cellules libres ou réunies en petit nombre, de cristaux d'urates et de phosphates ammoniaco-magnésiens. Au bout de peu de temps, un jour ou deux, toute l'urée a disparu, transformée en carbonate d'ammoniaque qui se dégage ou reste dissous dans le liquide. Au lieu d'urine, on peut employer une solution d'urée, obtenue pure de germes étrangers comme il a été indiqué page 184. On peut obtenir alors de très fortes proportions de carbonate d'ammoniaque sans voir périr la Bactérie; Van Tieghem en a vu former jusqu'à 13 p. 100 du liquide, qui était alors absolument impropre au développement des autres espèces accompagnant presque toujours le *Micrococcus ureæ*. Cette action s'accomplit rapidement dans le vide et sous une pression de trois atmosphères; le dédoublement se fait avec l'air, l'oxygène, l'azote, l'hydrogène, l'acide carbonique, le protoxyde d'azote (3). Cette fermentation ammoniacale de l'urée est due à une diastase, l'*uréase*, qu'a isolée Musculus (4) et que Pasteur et Joubert (5) ont montré être sécrétée par la Bactérie (Voy. p. 91). La fermentation marche au mieux lorsqu'il existe des matières albuminoïdes dans l'urine, lorsqu'on ajoute, par exemple, un peu de bouillon ou qu'on se sert d'urines de cystite riches en mucus. D'après l'excellent travail de Guiard (6), la transformation ammoniacale de l'urine dans la vessie exige, pour être durable et devenir un phénomène pathologique, le concours simultané de deux facteurs : les Bactéries et la cystite.

Cultivé sur gélatine, le *Micrococcus ureæ* donne des colonies homogènes, peu proéminentes, étalées en disque plat d'un blanc brillant, ressemblant à des gouttes de stéarine tombées sur la gelée. Les vieilles cultures dégagent une odeur fade rappelant la colle d'amidon.

Cette espèce est très répandue; il suffit d'exposer peu de temps à l'air un ballon rempli d'urine stérilisée et neutralisée, pour qu'on ait de

(1) Van Tieghem, Recherches sur la fermentation de l'urée et de l'acide hippurique (*Ann. sc. de l'École normale*, I, et *C. R. de l'Acad. des sc.*, t. LVII, 1864, p. 210).

(2) Miquel, Études sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée (*Ann. de micr.*, 1889, 1890).

(3) Ladureau, Sur le ferment ammoniacal (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCVIII, 1884, p. 877).

(4) Musculus, Sur le ferment de l'urine (*Ibid.*, LXXXII, 1876).

(5) Pasteur et Joubert, Sur la fermentation de l'urine (*Ibid.*, LXXXIII, 1876).

(6) Guiard, Études cliniques et expérimentales sur la transformation ammoniacale des urines. Thèse de Paris, 1883.

grandes chances de la voir s'y développer, seule ou en compagnie d'autres. C'est probablement l'*Urococcus Van Tieghemi* de Miquel. Elle n'est du reste pas la seule Bactérie qui puisse provoquer le dédoublement de l'urée en carbonate d'ammoniaque; plusieurs l'opèrent aussi bien qu'elle, entre autres le *Bacillus ureæ*, isolé par Miquel (1) de l'eau d'égout, de nombreuses autres espèces de Bacilles, étudiés par le même savant, plusieurs *Micrococcus* dont trois liquéfient la gélatine, et, d'après Leube (2), une *Sarcine*, mal déterminée jusqu'ici.

Flügge (3) a décrit sous le nom de *Micrococcus ureæ liquefaciens* un ferment de l'urée qui se distingue du précédent par la propriété qu'il présente de liquéfier la gélatine.

Les éléments sont des coccus ronds de 1,25 μ à 2 μ de diamètre, isolés, réunis en chaînes de 3 à 10 articles ou formant de petits amas. Ils forment sur gélatine une culture blanche assez abondante qui liquéfie assez rapidement la gelée. Du reste, trois des *Urococcus* de Miquel liquéfient la gélatine.

MICROCOCCUS NITRIFICANS Van Tieghem.

Les caractères morphologiques de l'espèce à laquelle ce nom a été appliqué n'ont pas encore été nettement indiqués jusqu'ici. Ce sont de très petites Bactéries sphériques que Schlœsing et Müntz (4) ont isolées de la terre végétale où elles abondent. Elles sont fréquentes dans l'eau d'égout et très rares dans les eaux courantes; l'air et les poussières recueillies au-dessus du sol n'en renferment jamais.

La forme des cellules varie dans de larges limites; elles sont tantôt rondes, tantôt, plus souvent, ovales ou en courts bâtonnets. Il en est de même de la largeur qui passe du simple au double. Aussi est-il très rationnel de se ranger à l'opinion de Duclaux (5), qui pense que la dénomination de *Micrococcus nitrificans* comprend plusieurs espèces distinctes. L'emploi des méthodes actuellement connues permettrait peut-être de les isoler.

L'espèce décrite par ces auteurs est aérobie, mais peut se contenter de très faibles quantités d'oxygène. Sa propriété la plus intéressante est la production d'acide nitreux, puis d'acide nitrique aux dépens de l'ammoniaque qu'elle a à sa disposition. Le phénomène de nitrification est, dans certaines limites, en rapport direct avec la température. Nulle au-dessous de 5°, l'action chimique ne devient bien appréciable que vers 12°; elle présente un maximum à 37°, puis décroît et s'éteint vers 50-55 degrés. Une température de 100° maintenue pendant quelques minutes détruit toute vitalité et toute action chimique.

Lorsque les conditions de température ou d'aération sont insuffisantes ou lorsque le ferment vieillit, le processus ne s'accomplit qu'en partie: il se produit des nitrites au lieu de nitrates.

(1) Miquel, Recherches sur le Bacille ferment de l'urée (*Bull. de la Soc. chim.* XXXII, 1879, p. 126, et *Ann. de micr.*, 1889 et 1890).

(2) Leube, Ueber die ammoniakalische Harngährung (*Virchow's Arch.*, C, p. 540).

(3) Flugge, Die Microorganismen, 1886, p. 169.

(4) Schloesing et Muntz, Recherches sur la nitrification (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXIX, p. 301; LXXXIX, p. 891 et 1704, 1879 et suiv.).

(5) Duclaux, Chimie biologique, p. 711 et suiv.

Cette propriété de nitrification de l'ammoniaque semble peut-être appartenir, à des degrés divers cependant, à un certain nombre d'espèces bactériennes. Heraeus (1), P. et G. Frankland (2), Warington (3), Burri et Stutzer (4) disent l'avoir reconnue à plusieurs espèces de Bactéries de l'eau ou du sol. Les travaux les plus importants sur ce sujet sont sans contredit ceux de Winogradsky (5) qui est parvenu à isoler du sol plusieurs organismes spéciaux parmi lesquels paraît être le véritable ferment nitrique entrevu par Schlœsing et Müntz (6).

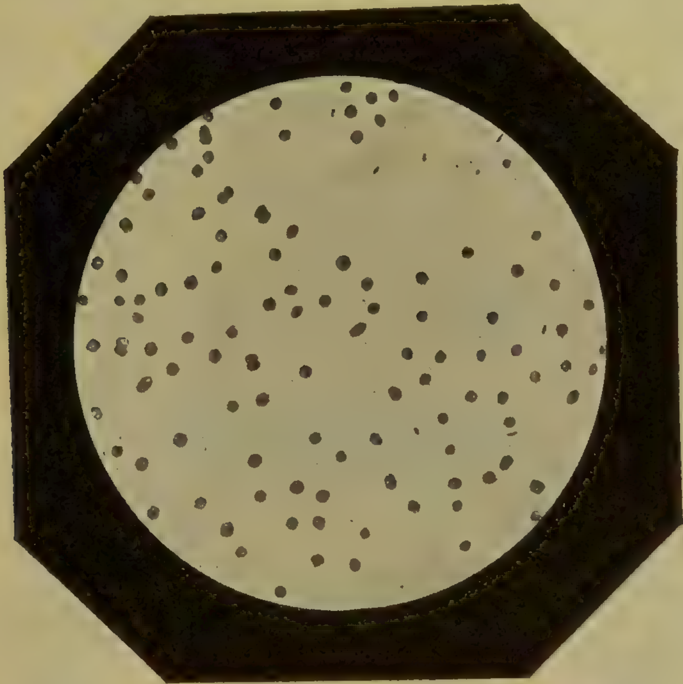


Fig. 193. — *Nitrosomonas* (d'après Winogradsky).

Le phénomène de la nitrification paraît passer par deux phases qui sont sous la dépendance d'espèces bactériennes différentes. Dans une première phase, certaines Bactéries du sol transforment l'ammoniaque en nitrites, sans pouvoir pousser plus loin la décomposition ; ce sont les *Nitrosomonas* ou les *Nitrosococcus* de Winogradsky. Ce sont d'autres espèces, ses *Nitrobactéries*, qui oxydent les nitrites formés précédem-

(1) Heraeus, Ueber das Verhalten der Bacterien im Brunnenswasser sowie über reduciende und oxydirende Eigenschaften der Bacterien (*Zeitschr. für Hygiene*, VI, p. 375).

(2) P. et G. Frankland, Ueber einige typische Microorganisme im Wasser und im Boden (*Zeitschr. für Hygiene*, VI, p. 373).

(3) Warington, On nitrification (*Journ. of the Chemic. Soc. Transactions*, II, 1891, p. 484).

(4) Burri et Stutzer, Ueber Nitrat zerstörende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverlust (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., I, p. 257, 350, 392, 422). — *Id.*, Ueber einen auf Nährgelatine gedeihenden nitratbildenden Bacillus (*Ibid.*, p. 721). — *Id.*, Nitrification in Erdboden (*Ibid.*, II, 1896, p. 105).

(5) Winogradsky, Recherches sur les organismes de la nitrification (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, p. 213, 257, 760; V, 1891, p. 92 et 577). — *Id.*, Morphologie des organismes de la nitrification (*Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, 1891, p. 87). — *Id.*, Zur Mikrobiologie des Nitrifikationsprozesses (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., II, 1896, p. 415 et 449).

(6) Burri, Ueber Nitrification. Sammel-Referat (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., I, 1895, p. 22 et 80).

ment et les transforment en nitrates. C'est dans ses *Nitrosomonas* que doit se placer le ferment décrit par Schlœsing et Müntz; son *Nitrosomonas europea* doit reprendre le nom de *Micrococcus nitrificans*.

Mais la nitrification de l'azote organique ne peut pas avoir lieu sous la seule action des microbes nitrificateurs. Il faut au préalable que cet azote ait passé à l'état d'ammoniaque, phénomène que déterminent beaucoup des espèces microbiennes communes dans la terre et les eaux.

Les cellules sont rondes ou ellipsoïdales chez le *Nitrosomonas* en pleine activité; elles ont au moins 1 μ de diamètre; les formes en pleine activité atteignent 1,8 μ et plus de longueur (fig. 193). Ces éléments sont la plupart du temps immobiles; ils présentent cependant de courtes périodes de mobilité. Lorsqu'ils sont au repos, ils sont réunis en petits amas par une matière gélatineuse très peu consistante; on peut même leur reconnaître une sorte de petite capsule.

Le microbe qui transforme les nitrites en nitrates, le *Nitrobacter* de Winogradsky, est une Bactérie en bâtonnets très fins, immobiles, de 0,5 μ de long sur 0,2 μ de large, entourés d'une mince couche de gelée; ils se colorent mal aux couleurs d'aniline. On doit lui attribuer la dénomination de *Bacillus nitrificans*.

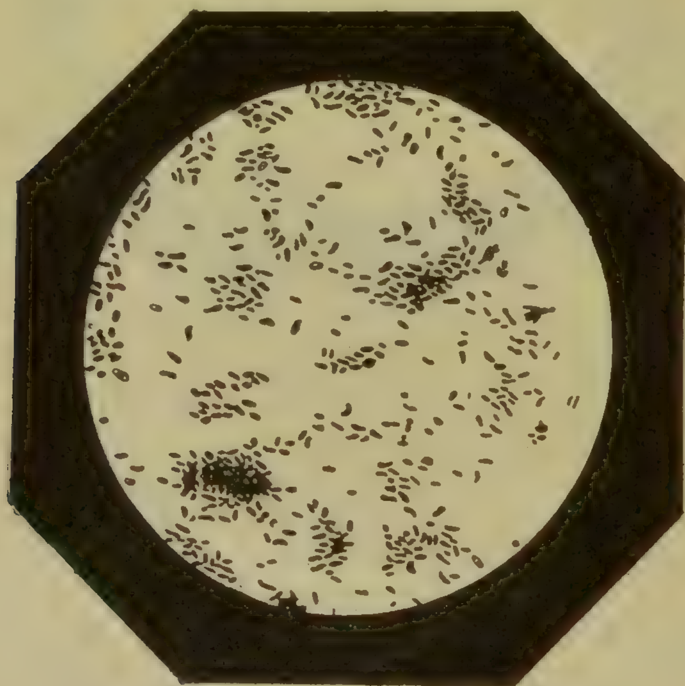


Fig. 194. — *Nitrobacter* (d'après Winogradsky).

Ces espèces présentent comme caractère important de croître abondamment et exercer leur action nitrifiante dans un milieu absolument privé de matière organique; la présence de matières organiques entrave même la nitrification (1). C'est en employant des liquides de cultures absolument dépourvus de substances organiques que Winogradsky est parvenu à isoler ces ferments nitriques d'autres espèces qui l'accompa-

(1) Winogradsky et Omeliansky, L'influence des substances organiques sur le travail des microbes nitrificateurs (*Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, VII, 1899, p. 233). — Omeliansky, Sur la nitrification de l'azote organique (*Ibid.*, p. 272).

gnent toujours. Le procédé des cultures sur plaques de gélatine ne donne aucun résultat; ces espèces ne croissent pas sur ce milieu qui est au contraire rapidement envahi par les autres Bactéries.

En ajoutant au liquide de culture purement minéral un carbonate terreux, carbonate de chaux ou de magnésie, le ferment nitrique se fixe sur les particules du sel et les englobe d'une masse gélatineuse, de telle sorte que bientôt tout le dépôt est envahi et peut être entièrement dissous par le microbe.

Dans les liquides qui contiennent de petites quantités de sels ammoniacaux, la nitrification se fait régulièrement. En trois ou quatre jours, on a une belle réaction avec la diphénylamine. Quelques jours après, la réaction est très intense ; une goutte du liquide de culture colore en bleu noir plusieurs centimètres cubes de la liqueur diphénylamique.

Pour éviter d'une manière absolue la présence de toute trace de matière organique et profiter cependant des commodités qu'offrent les substances gélatinisantes pour l'isolement des microbes, Winogradsky s'est servi d'une solution aqueuse d'acide silicique, capable de se gélatiniser facilement sous certaines influences (Voy. p. 193). Il recommande d'étendre de trois fois son volume d'eau le *verre soluble* du commerce, de consistance trop épaisse. Cent centimètres cubes du liquide sont alors versés en agitant dans 50 centimètres cubes d'acide chlorhydrique étendu et le mélange mis dans un dialyseur. Au bout de trois jours, en laissant le dialyseur le premier jour dans l'eau courante, le reste du temps dans l'eau distillée souvent renouvelée, la solution est prête pour l'usage. On le reconnaît à ce qu'elle ne donne aucun trouble avec le nitrate d'argent. Elle peut alors être stérilisée par ébullition et conservée dans un ballon bouché avec de l'ouate.

La solution nutritive est ainsi composée :

Sulfate d'ammoniaque	0,4
Sulfate de magnésie	0,05
Phosphate de potasse	0,1
Chlorure de calcium	Traces.
Carbonate de sodium	0,6 à 0,9
Eau distillée	100

Les sulfates et le chlorure d'un côté, le phosphate et le carbonate de l'autre sont dissous séparément et stérilisés à part et mélangés après refroidissement.

On concentre la solution silicique jusqu'à ce qu'elle soit réduite à moitié, puis on ajoute le tiers ou le quart de la solution saline, de façon à obtenir un milieu qui se gélatinise en cinq ou six minutes.

On se sert du milieu comme de la gélatine ordinaire. Les colonies des Bactéries de la fermentation nitrique y restent toujours très petites, à peine visibles à l'œil nu. D'autres organismes s'y développent également. Il est facile de distinguer les colonies des nitrobactéries en les prélevant et les jetant dans un peu d'acide sulfurique additionné de diphénylamine; la colonie du ferment nitrique se colore en bleu intense.

P. et G. Frankland, Burri et Stutzer ont isolé des eaux et de la terre d'autres espèces de *Bacilles nitrifiants*, se distinguant de celui de Winogradsky par les dimensions plus fortes, par la mobilité et la possibilité de se cultiver sur les milieux ordinaires; mais Winogradsky a démontré

que ces auteurs avaient expérimenté avec des cultures impures où, à côté du microbe nitrifiant vrai, existaient d'autres espèces dépourvues de tout pouvoir nitrifiant ; ces dernières seules donnent des cultures sur les milieux ordinaires employés.

D'après Stutzer et Hartleb (1), tous les microbes nitreux et nitriques isolés par Winogradsky ne seraient que des phases diverses de l'évolution d'une Mucédinée polymorphe, leur *Salpeterpilz*, qui présenterait une phase mycélienne, une phase de macrospores et une de microspores; la forme mycélienne seule pourrait vivre aux dépens de matière organique, les deux autres n'attaqueraient que l'ammoniaque. Ces idées n'ont pas été confirmées.

Les microbes nitrifiants sont très largement répandus dans le sol et les eaux.

Dans le sol, l'action de ces espèces est intimement liée à celle des ferments des matières azotées et en particulier de l'espèce précédente, le *Micrococcus ureæ*. Le dernier terme complexe de la transformation de l'azote des substances azotées est le carbonate d'ammoniaque qui n'est pas assimilable pour les plantes. Il ne le devient qu'à la suite de sa transformation en nitrates alcalins par les Bactéries du sol et rentre ainsi dans la circulation vitale. On peut donc concevoir le rôle considérable qui revient à ces espèces dans la nutrition de la plante et s'expliquer les curieuses observations de Duclaux (2) sur la germination dans un sol privé de Bactéries. Les plantes que l'on obtient par ce procédé restent aussi grêles que celles qui poussent dans l'eau pure. Elles sont privées de l'action si énergique des Bactéries qui leur préparent leurs aliments sous une forme très assimilable, directement ou à l'aide de leurs puissantes diastases.

De nombreuses Bactéries peuvent attaquer les nitrates ainsi formés par les microbes nitrifiants, et donner des composés de plus en plus simples jusqu'à l'azote gazeux. Ces *microbes dénitrifiants* appauvrissent le sol en composés utiles; leur action est défavorable à ce point de vue (3).

MICROCOCCUS OBLONGUS Boutroux.

Cette espèce a été isolée de la bière par Boutroux (4). Les cellules mesurent de 1 à 2 μ de diamètre, selon l'âge; les vieilles sont plus petites. Elles sont isolées, réunies par deux ou en grand nombre, en chapelets longs et flexueux. Il se formerait, dans des cultures âgées, de longs filaments qui, transportés dans un nouveau milieu nutritif, se segmenteraient aussitôt en *Micrococcus*.

(1) Stutzer et Hartleb, Der Salpeterpilz (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., III, 1897, p. 6, 54, 161, 235, 311 et 351).

(2) Duclaux, Sur la germination dans un sol riche en matières organiques, mais exempt de microbes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, C, 1886, p. 68).

(3) Stutzer et Maul, Ueber nitratzerstörende Bakterien (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., II, 1896, p. 473). — Hjalmar Jensen, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Denitrifikations Bakterien (*Ibid.*, IV, 1898, p. 401 et 449). — Marpmann, Ueber Denitrifikationsvorgänge in der Natur (*Ibid.*, V, 1899, p. 67). — Serverin, Zur Frage über die Zersetzung von Salpeter sauren Salzen durch Bakterien (*Ibid.*, III, 1897, p. 504 et 554).

(4) Boutroux, Sur une fermentation nouvelle de la glucose (*Ann. de l'École normale supérieure*, 1880).

Le milieu de culture le plus favorable est une solution de glucose, additionnée de petites quantités de tartrate d'ammoniaque et de phosphate de soude. Quelques heures après l'ensemencement, le liquide se recouvre d'un voile très léger qui, au bout de vingt-quatre heures, devient blanc velouté et, après deux jours, laisse pendre de longs filaments dans le liquide. Ce voile se brise avec une grande facilité. L'espèce est aérobie ; ce mode de végétation suffit à le montrer. Le liquide devient rapidement acide ; aussi, si l'on veut observer un développement abondant, faut-il ajouter de la craie au fond du vase, pour neutraliser l'acide produit. Au bout de trois ou quatre jours, il se dégage sous le voile quelques bulles d'acide carbonique. Le dégagement gazeux s'arrête du dix-huitième au vingtième jour. Vers le vingt-cinquième jour, on distingue sur la craie une mince couche de cristaux qui augmente rapidement. Ils sont formés par le sel de chaux d'un acide identifié par Boutroux avec l'acide glyconique ; ce qui a fait donner au mode spécial de transformation de la glucose, sous l'influence de cette Bactérie, le nom de *fermentation glyconique*.

MICROCOCCUS VISCOSUS Pasteur.

Pasteur a montré que cette espèce était la cause d'une altération spéciale du vin et de la bière, connue sous le nom de *graisse* (1). Le liquide contaminé se trouble, puis prend, au bout de peu de temps, une consistance visqueuse ; il peut devenir filant comme du blanc d'œuf, d'où le nom de *vin filant* qu'on lui donne.

Le *Micrococcus*, cause de la maladie, a des éléments sphériques de 1 μ de diamètre en moyenne, avec d'assez fortes variations en plus ou en moins. Ces coccus sont rarement isolés, parfois réunis par deux, mais le plus souvent en longues chaînes flexueuses (fig. 195). Il sécrète une gomme particulière, que Béchamp (2) nomme *viscose* ; c'est elle qui donne au liquide où végète l'espèce sa consistance spéciale. Il se cultive très bien dans les solutions de sucre de canne, qu'il rend fortement visqueuses, même lorsqu'elles ne renferment que de faibles proportions, 1 p. 100, de sucre. Le sucre de canne seul peut subir la fermentation visqueuse ; dans les mêmes circonstances, le sucre interverti, la glucose, la maltose ne produisent pas de viscose, mais peuvent donner de la mannite.



Fig. 195. — *Micrococcus viscosus* d'une bière filante. A côté des chapelets de coccus, on observe de nombreux globules de Levure de bière (d'après Pasteur).

Le liquide de culture, solution sucrée, vin, bière ou cidre, dégage une odeur fade.

Un certain nombre d'autres espèces de Bactéries possèdent aussi la propriété de rendre visqueux les liquides où on les cultive. Elles la doivent très probablement aussi à la production du même principe gommeux. Il n'est pas possible encore de préciser les rapports qu'elles

(1) Pasteur, Études sur le vin, 1866 et 1872.
(2) Béchamp, Sur la viscose ou substance gommeuse de la fermentation visqueuse (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCII, 1881, p. 78).

ont avec celle en question, les particularités des cultures n'étant pas suffisamment connues. Le *Bacillus mesentericus vulgatus* rend très visqueux le lait où on le cultive. Les espèces décrites par Duclaux sous le nom d'*Actinobacter polymorphus* et par Van Laer (1) sous le nom de *Bacillus viscosus*, que nous étudierons plus loin, possèdent aussi à un haut degré la propriété de rendre visqueux les liquides où elles se développent.

L'urine devient aussi fréquemment visqueuse; elle peut même l'être dès l'émission. On ne connaît pas l'espèce ou les espèces de Bactéries qui occasionnent ce phénomène. Pietro Albertoni (2), analysant une urine visqueuse, a constaté que la viscosité était due à un hydrate de carbone. Ce corps précipite par l'alcool, le sulfate de cuivre et la soude; chauffé avec l'acide sulfurique, il donne la réaction du furfurol. Cette substance serait produite par un Bacille décrit par Brazzola (3).

MICROCOCCUS AQUATILIS Meade Bolton.

Meade Bolton (4) a décrit sous ce nom une espèce qu'il a isolée d'eaux potables et dont il ne donne que les caractères des cultures sur plaques. A un grossissement moyen, les jeunes colonies, qui se trouvent dans l'épaisseur de la gélatine, sont rondes, avec un contour denté et une apparence mûriforme; elles ont une coloration jaune brillant. Dès qu'elles viennent émerger à la surface, elles s'étendent. A l'œil nu, elles forment alors des taches circulaires aplaties, d'un blanc de porcelaine. Au microscope, on leur distingue des contours nets, une zone marginale mince, homogène, et une partie centrale d'un aspect tout particulier. Du centre, plus sombre, part en rayonnant un système de sillons qui découpe cette partie en petits îlots rhombiques, l'aspect de la figure rappelant le schéma connu d'un acinus du foie. La gélatine n'est pas liquéfiée.

D'après Bolton, le *Micrococcus aquatilis* serait une des espèces les plus communes de l'eau. Il végéterait très facilement dans ce liquide et se multiplierait même abondamment dans l'eau distillée.

MICROCOCCUS VITICULOSUS Flugge (5).

Cette espèce, à développement assez caractéristique, a été trouvée dans le laboratoire de Flügge comme impureté dans une culture, venant très probablement de l'air. Elle a été depuis signalée dans l'eau.

Ce sont des *Micrococcus* légèrement ovales, mesurant 1,2 μ de long sur 1 μ de large; on les trouve d'habitude réunis en gros amas. En cultures sur plaques, les colonies qui se développent dans la masse de gélatine se résolvent bientôt, sans liquéfier le milieu, en un système de fins tractus contournés en vrilles, formant un large réseau à mailles

(1) Van Laer, Note sur les fermentations visqueuses (*Mém. de l'Acad. roy. des sc. de Belgique*, 1889, et *C. R. de la station scientifique de brasserie de Gand*, t. I, 1890).

(2) Pietro Albertoni, *Ann. di Chimica e Farmacia*, X, p. 367.

(3) Brazzola, *Acc. d. sc. del l'Inst. di Bologna*, IX, p. 7, 85.

(4) Meade Bolton, Ueber das Verhalten verschiedener Bacterienarten im Trinkwasser (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 1886, p. 76).

(5) Flugge, Les microorganismes. Paris, 1887.

fines. C'est de cette particularité que provient le nom attribué à l'espèce (*viticula*, plante grimpante). Au microscope, on s'aperçoit que ces prolongements sont constitués par de petites colonies rondes disposées en files et ont un contour sinueux. Les colonies qui se développent à la surface forment une pellicule mince blanchâtre, muqueuse, envoyant de fins prolongements dans les couches sous-jacentes du milieu. Les filaments des colonies profondes, qui arrivent à la surface, s'y étalent en prenant le même aspect.

En piqûre ou en strie, sur gélatine, on observe un développement analogue ; on trouve des filaments dans la gelée et le même revêtement à la surface. Il ne se produit aucune liquéfaction.

Sur pomme de terre, on obtient en peu de temps une pellicule blanche, sèche.

MICROCOCCUS CANDICANS Flugge (1).

Il est très fréquent sur les cultures sur plaques et abonde dans l'air et dans l'eau.

Les cellules sont grandes, régulièrement sphériques, de 1 à 2 μ de diamètre, immobiles, réunies en amas irréguliers.

En culture sur plaques de gélatine, les colonies qui se développent dans la profondeur forment de petits disques jaunâtres, d'un demi-millimètre environ. A un faible grossissement, elles paraissent circulaires, à bords lisses, colorées en brun sombre et faiblement granuleuses. Celles qui se trouvent à la surface sont de petites taches d'un blanc de lait, atteignant 2 millimètres en deux jours, à surface lisse et brillante ; à un faible grossissement, leurs contours paraissent irréguliers et sinueux, elles sont finement granuleuses et ont un centre brun sombre. La gélatine n'est jamais liquéfiée.

En piqûre dans la gélatine, on a une culture en clou blanche. L'aspect est le même sur la gélose. Sur pomme de terre, la culture est blanche, brillante, porcelanée.

MICROCOCCUS CANDIDUS Cohn.

C'est aussi une espèce commune dans l'air et l'eau.

Ce sont de petits coccus immobiles, de 0,5 à 0,7 μ de diamètre, donnant sur les plaques de gélatine de petites taches d'un blanc de neige, arrondies, puis irrégulières, ne liquéfiant jamais la gelée. Le développement dans les différents milieux paraît beaucoup plus lent que celui de l'espèce précédente.

MICROCOCCUS FERVIDOSUS Adametz.

Adametz l'a isolé de l'eau.

Les coccus, ronds et immobiles, mesurent 0,6 μ de diamètre et sont réunis en Diplocoques ou en petits amas. Leur végétation est extraordinairement lente dans les cultures ; ils ne liquéfient pas la gélatine.

En culture sur plaques de gélatine, les colonies qui se développent

(1) Flugge, Les microorganismes, trad. franç. Paris, 1887.

dans la profondeur apparaissent, après quatre à cinq jours, comme de petits points blancs. A un faible grossissement, elles paraissent ovoïdes, faiblement jaunâtres, à contours nets, et ont une grande ressemblance avec des gouttes de rosée. Celles qui arrivent à la surface sont bien plus grandes ; elles gagnent, au bout de cinq à six jours, un bord dentelé et même sinueux. Les vieilles colonies sont granuleuses et brunâtres au centre ; la zone périphérique, jaunâtre, montre un plissement peu accentué.

En piqûre dans la gélatine, il se forme à la surface un petit disque rond, très mince, transparent, sans reflet nacré, et de fines granulations dans le canal.

Sur gélose, on obtient des colonies arrondies d'un blanc laiteux.

Les solutions sucrées se troublent rapidement; il s'y développe vers 30°, en deux jours, une fermentation énergique. Le liquide, après fermentation, contient jusqu'à 1 p. 100 d'alcool et des traces d'acide acétique et d'acide lactique.

Dans la gélatine sucrée et glycérinée vers 22°, il apparaît, le long de la piqûre, de grosses bulles de gaz qui tendent à remonter lentement à la surface.

MICROCOCCUS CONCENTRICUS ZIMMERMANN.

Il a été isolé de l'eau par Zimmermann (1).

Ce sont des coccus de 0,9 μ de diamètre, disposés en amas irréguliers.

En culture sur plaques, les colonies situées dans la gélatine apparaissent à l'œil nu comme de petits points d'un gris bleu. Arrivées à la surface, elles s'élargissent et donnent des disques arrondis, d'un bleu gris, qui grandissent et prennent des contours irréguliers. En cinq jours, la colonie peut atteindre 3 millimètres de diamètre. A un grossissement moyen, les colonies incluses dans la gelée sont brunâtres ou gris jaunâtre, et montrent plusieurs cercles concentriques assez réguliers. Celles de la surface ont au centre un disque gris brun, plus sombre, à bords irrégulièrement crénelés, présentant çà et là des fissures radiaires ; ce centre est entouré d'un anneau sinueux, bordé d'un liséré blanchâtre brillant. La gélatine n'est pas liquéfiée.

En piqûre dans la gélatine, il se forme à la surface, autour de la piqûre, un revêtement gris bleuâtre, montrant des zones concentriques nettes.

Sur gélose et sur pomme de terre, on obtient une culture mince, grisâtre.

Cette espèce paraît être un pur saprophyte.

MICROCOCCUS ROSETTACEUS ZIMMERMANN.

Zimmermann l'a signalé dans l'eau.

Les coccus, sphériques ou elliptiques, associés en petits amas, ont de 0,7 à 1 μ de diamètre.

Sur plaques de gélatine, les colonies incluses dans la gelée sont de

(1) ZIMMERMANN, Die Bacterien unserer Trink-und Nutzwässer, 1890.

petites masses grisâtres, arrondies, rarement lenticulaires. Celles qui s'étalent à la surface ont l'aspect d'une gouttelette gris jaunâtre, brillante, à bords irréguliers ; à un grossissement moyen, elles paraissent brunes, ont un centre plus foncé et des bords plus clairs. La gélatine n'est pas liquéfiée.

En piqûre sur gélatine, il se forme une petite culture disposée souvent en rosette, et presque rien dans le canal. En strie sur gélatine et gélose, on obtient une culture grise, lisse et brillante.

Dans le bouillon, cette espèce donne une mince pellicule à la surface, et un dépôt floconneux grisâtre.

MICROCOCCUS COULEUR CRÈME.

List (1) en a décrit un dont les éléments très gros, de 1,5 à 2,2 μ, immobiles, sont isolés, réunis par deux ou en longues chaînettes. Les colonies sur plaques sont de petites gouttes muqueuses, d'un jaune-crème. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Une autre espèce a été décrite par Zimmermann sous le nom de *Micrococcus cremoides*. Les coccus, de 0,8 μ de diamètre, sont réunis en petits amas.

Les colonies incluses dans la gelée des plaques sont de petits disques granuleux, jaunâtres ou brun grisâtre. Dès qu'elles arrivent à la surface, elles perdent leurs contours réguliers et la gélatine se liquéfie en cupule autour d'elles. Il se forme dans la cupule un dépôt blanc jaunâtre, qui présente aussitôt des anneaux concentriques. A un grossissement moyen, on observe uniquement des pelotes jaunâtres, granuleuses, autour desquelles se trouve une zone granuleuse moins épaisse, et qui sont entourées d'un liquide transparent ; à la périphérie se trouvent souvent de fins prolongements radiaires qui pénètrent dans la gélose ambiante.

En piqûre, la gélatine se liquéfie en trois ou quatre jours à la température ordinaire. La cupule de liquéfaction mesure de 3 à 5 millimètres de diamètre ; à sa surface, on observe habituellement un creux donnant l'illusion d'une bulle de gaz. Au dixième jour, la liquéfaction atteint les parois du tube. Le liquide est clair et montre un dépôt blanc jaunâtre.

Sur gélose on obtient, en trois ou quatre jours, une culture blanc jaunâtre, ambrée, luisante. Sur pomme de terre, une couche de couleur crème.

Ces deux espèces ont été trouvées dans l'eau.

MICROCOCCUS RADIATUS Flugge.

C'est aussi un saprophyte de l'eau.

Les coccus, peu mobiles, mesurent de 0,8 à 1 μ ; ils sont isolés, en courtes chaînettes ou en petits amas.

Sur plaques de gélatine, en deux jours, les colonies ont atteint 1 millimètre de diamètre. Elles sont blanches avec un reflet jaune verdâtre, présentent parfois des prolongements qui les font ressembler à des étoiles de mer. La gélatine est déjà liquéfiée. Deux jours après, il se forme, aux dépens des prolongements, une couronne radiée, délicate et régu-

(1) Adametz, Die Bacterien der Trink und Nutzwässer. Vienne, 1888.

lière. Après deux ou trois jours, il peut se développer une seconde couronne, puis une troisième, à rayons plus courts et irréguliers. La colonie a 1 centimètre à $1^{cm},5$ de diamètre.

En piqûre, dans la gélatine, il part, du trait d'inoculation, de nombreux prolongements radiaires ; puis il se forme un entonnoir de liquéfaction qui progresse très lentement.

Sur pomme de terre, la culture, qui croît rapidement, est colorée en jaune brun.

MICROCOCCUS CORONATUS Flugge.

C'est une espèce de l'air, dont les éléments ont un peu plus de 1 μ de diamètre.

Les colonies de la surface des plaques de gélatine sont formées d'un disque opaque, restant de la colonie profonde, d'où partent, en deux ou trois points, de courts prolongements symétriques. La liquéfaction du milieu commence ; autour du centre, il se forme un anneau entourant la partie centrale comme d'une auréole.

MICROCOCCUS SORNTHALII Adametz.

D'après Adametz (1), c'est une espèce fréquente dans le lait, pouvant aussi se rencontrer dans les fromages.

Les éléments sont des coccus ronds ou ovoïdes, de 0,7 μ de diamètre moyen, isolés, en Diplocoques ou en petits amas, rarement en tétrades ou en courtes chaînes, arrangés souvent en rosettes dans les cultures dans le lait.

Sur plaques de gélatine, les cultures apparaissent vite sous forme de petits points blancs ; celles de la surface s'étalent en petits disques muqueux d'un blanc sale ou un peu grisâtres, présentant des stries concentriques. La gélatine n'est jamais liquéfiée.

En piqûre ou en strie dans la gélatine, il se forme des colonies muqueuses, blanchâtres ou un peu jaunes. Le même aspect se produit sur gélose.

Ce microbe fait rapidement fermenter le sucre de lait avec dégagement gazeux formé d'acide carbonique et d'hydrogène. Dans le lait, en outre, la caséine est précipitée ; il se forme de l'acide lactique.

Ce serait un des organismes produisant la boursouflure des fromages.

MICROCOCCUS FREUDENREICHII Guillebeau.

Il a été isolé par Guillebeau (2) d'un lait devenu visqueux.

Ce sont de gros coccus de 2 μ et plus de diamètre, fréquemment disposés en chaînettes, surtout dans les cultures en bouillons.

Les cultures sur gélatine sont blanches et liquéfient rapidement la

(1) Adametz, Ueber Micrococcus Sornthalii (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., I, 1895, p. 465).

(2) Guillebeau, Ueber fadenziehende Kuhmilch (*Schweiz. Arch. für Thierheilk.*, XXXIV, 1892, p. 128).

gelée. Les cultures sur pomme de terre sont jaunes de soufre, parfois un peu brunâtres.

Le lait devient rapidement acide, puis filant; il est coagulé en quelques jours.

MICROCOCCUS DU LAIT AMER Conn.

Conn (1) l'a isolé d'une crème à saveur amère très marquée.

Gros coccus, disposé souvent en Diplocoques et formant de courtes chaînettes dans certains milieux, sur gélose principalement.

Il liquéfie très rapidement la gélatine; le liquide est très visqueux. Les cultures sur gélose ont une couleur blanche; celles sur pomme de terre sont d'un blanc brillant. Dans le bouillon, il forme un mince voile à la surface et rend le milieu épais, muqueux. Le lait se coagule en un jour; il est acide et fortement amer.

(1) Conn, Ueber einen bittere Milch erzeugenden Micrococcus (*Centralbl. für Bakt.*, IX, 1891, p. 653).

Tableau résumant les caractères les plus importa

DÉSIGNATION DES ESPÈCES.	HABITAT.	CARACTÈRES — SUR PLAQUES.	SUR GÉLATINE.	SUR GÉLOSE.
Micrococcus albicans amplus, p. 404.	Mucus vaginal.	»	Ne liquéfie pas. Bande grisâtre, nuageuse.	»
M. albicans tardissimus, p. 405	Pus d'écoulements urétraux.	»	Ne liquéfie pas. Croît très lentement; mince culture grisâtre.	»
M. aquatilis, p. 446	Eaux.	Culture blanc jaunâtre mûriforme dans la gelée. Disque blanc de porcelaine à la surface.	Ne liquéfie pas.	»
M. aurantiacus, p. 435	Air.	Disque jaune orange brillant.	Liquéfie et donne un dépôt orange.	Couche ja épaisse.
M. candicans, p. 447	Air et eau.	Larges disques d'un blanc brillant, à contours sinueux.	Ne liquéfie pas; culture blanche en clou.	»
M. candidus, p. 447	Air et eau.	Petites taches d'un blanc de neige, ne liquéfiant pas.	Culture blanche ne liquéfiant pas.	»
M. cereus albus, p. 362	Pus.	Colonies rondes, à bords lisses, formant à la surface de petites taches blanches.	Ne liquéfie pas. Culture blanc grisâtre; la colonie de la superficie ressemble à une pellicule de cire blanche.	Large pel d'un blanc gri à bords sinueux semblant à de l blanche.
M. cereus flavus, p. 363	Pus.	Comme l'espèce précédente, mais les colonies sont jaune-citron.	Cultures ressemblant à de la cire jaune ne liquéfiant pas.	»
M. cinnabareus, p. 435	Air.	Petits boutons d'un rouge terne.	Ne liquéfie pas. Culture abondante, rouge-brique un peu rose.	Large co rouge-brique
M. citreus conglomeratus, p. 401	Pus blennorragique.	Petites taches jaunes, homogènes, granuleuses.	Colonies jaune-citron qui se fendillent en vieillissant. Ne liquéfie pas.	Culture jau abondante en jours.
M. du clou de Biskra, p. 364	Sang de malades atteints de clou de Biskra, bouton du Nil, etc.	»	Liquéfie la gélatine et produit à la surface des flocons jaunâtres.	Taches sa d'abord bl puis jaune or
M. concentricus, p. 448	Eau.	Les colonies de la gelée ont des cercles concentriques.	Revêtement gris bleuâtre à cercles concentriques.	Culture mi sâtre.
M. diffluens, p. 437	Air.	»	Ne liquéfie pas. Masse muqueuse jaune sale. Colore la gelée en jaune avec une fluorescence verdâtre.	Pellicule ja
M. fervidosus, p. 447	Eau.	Les colonies de la surface ressemblent à des gouttes de rosée; les vieilles deviennent granuleuses et brunâtres; pas de liquéfaction.	En piqûre, petit disque transparent à la surface et fines granulations dans le canal. Ne liquéfie pas.	»

principales espèces du genre *MICROCOCCUS*.

…TURES.		CARACTÈRES DES CELLULES.	INFLUENCE DE L'OXYGÈNE ET DE LA CHALEUR.	ACTION PHYSIOLOGIQUE.	OBSERVATIONS PARTICULIÈRES.
SUR …MME DE TERRE.	SUR BOUILLON.				
»	»	Diplocoques; chaque couple mesure de 3 μ à 3,5 μ.	»	Ne parait pas être pathogène.	Reste coloré par la méthode de Gram.
»	»	Diplocoques.	»	Ne parait pas être pathogène.	Reste coloré par la méthode de Gram.
»	»	»	»	Saprophyte.	Se développe bien dans l'eau distillée.
»	Mince pellicule jaune d'or.	Coccus elliptiques de 1,5 μ de grand diamètre.	»	Saprophyte.	»
»	»	Coccus sphériques isolés ou en petits amas.	»	Saprophyte.	»
»	»	Coccus immobiles de 0,5 à 0,7 μ.	»	Saprophyte.	»
…ouche grisâtre …s épaisse au mi…l.	Développement rapide vers 30°.	Coccus de 0,6 μ à 1,16 μ.	»	Ne parait pas être pathogène.	»
»	»	»	»	Ne parait pas être pathogène.	»
Couche muqueuse …ne-citron clair …deux jours.	Trouble persistant, dépôt rougeâtre, cohérent et visqueux.	Coccus ovoïdes de 0,9 μ, isolés, en couples ou en tétrades.	»	Saprophyte.	Odeur fade.
»	Trouble dès la 15e heure à 35°. Dépôt très abondant en trois jours.	Coccus de 1 μ de diamètre, réunis en Diplocoques, assez mobiles.	»	Ne parait pas être pathogène.	Reste coloré par la méthode de Gram.
Culture jaune-…ange dont la colo…tion se montre dès …premier jour.	Développement rapide à 35°.	Coccus mobiles de 0,5 à 1 μ de diamètre.	L'oxygène atténue la virulence.	Inflammation semblable à l'affection primitive, mais à marche plus rapide.	»
Culture mince gri…tre.	»	Coccus de 0,9 μ, en Staphylocoques.	»	Saprophyte.	»
»	»	Coccus elliptiques de 1,5 μ de long.	»	Saprophyte.	»
»	Fermentation énergique dans les liquides sucrés.	Coccus ronds immobiles, de 0,6 μ, en Diplocoques ou en petits amas.	»	»	Dans la gélatine sucrée et glycérinée, il développe des gaz.

Tableau résumant les caractères les plus importants

DÉSIGNATION DES ESPÈCES.	HABITAT.	CARACTÈRES DE		
		SUR PLAQUES.	SUR GÉLATINE.	SUR GÉLOSE.
M. flavus desidens, p. 437	Air.	Colonies arrondies à bords sinueux, jaune légèrement brunâtre, pouvant atteindre 1 centimètre. La gélatine se ramollit autour.	Membrane jaune gluante à la surface. Liquéfie lentement.	»
M. flavus liquefaciens, p. 436	Air.	Colonies jaunâtres, liquéfiant la gélatine.	Liquéfaction rapide. Le liquide clair laisse déposer un sédiment épais.	»
M. flavus tardigradus, p. 437	Air.	Colonies rondes, de couleur jaune de chrome foncé.	Ne liquéfie pas, se développe lentement et donne de petites colonies jaunes.	»
M. Freudenreichii, p. 450	Lait filant.	»	Culture blanche liquéfiant rapidement.	»
M. fulvus, p. 433	Excréments d'herbivores.	»	»	»
M. gonorrheæ, p. 387	Pus blennorragique dans les globules de pus et les cellules épithéliales.	»	Ramollit la gelée.	Colonies claires transparentes, à l'aspect luisant, à 35°.
M. intracellularis meningitidis, p. 379.	Exsudat de méningite cérébro-spinale.	»	»	Les cultures ne se développent qu'à 3[illegible] et ont leur maximum en 48 heures. Colonies rondes d'un jaune brunâtre.
M. lacteus faviformis, p. 403	Mucus vaginal normal et pus de bartholinite.	Petites colonies grises, à surface offrant une apparence aréolée.	Ne liquéfie pas. En strie, il forme des plaques d'un blanc de lait.	Bande blanchâtre à bords lobés.
M. luteus, p. 436	Air.	»	Ne liquéfie pas.	»
M. de la mammite contagieuse de la vache, p. 410	Glande mammaire et lait, dans la mammite chronique contagieuse de la vache.	Petites colonies rondes granuleuses, jaunâtres.	Ne liquéfie pas. Mince pellicule à la surface et léger trouble dans le canal.	Le long de la stri[illegible] petites colonies ro[illegible] des translucides, q[illegible] peuvent confluer [illegible] une mince pellicu[illegible] blanche.
M. de la mammite gangreneuse de la brebis, p. 412	Mamelle dans la mammite gangreneuse des brebis laitières.	Colonies à centre brunâtre entouré d'une auréole de liquéfaction.	Liquéfie dès le deuxième jour.	Pellicule épais[illegible] d'abord blanch[illegible] puis jaunâtre.
M. de la nécrose progressive du tissu conjonctif de la souris, p. 418	Gangrène déterminée chez la souris par inoculation de sang putréfié.	»	»	»

; principales espèces du genre *MICROCOCCUS*.

TURES.		CARACTÈRES DES CELLULES.	INFLUENCE DE L'OXYGÈNE ET DE LA CHALEUR.	ACTION PHYSIOLOGIQUE.	OBSERVATIONS PARTICULIÈRES.
SUR …MME DE TERRE.	SUR BOUILLON.				
»	»	Coccus sphériques en Diplocoques ou en courtes chaînes.	»	Saprophyte.	»
»	»	Gros coccus réunis par deux ou en petits amas.		Saprophyte.	»
»	»	Cellules sphériques de 1,5 µ.	»	»	»
…ulture jaune.	»	Coccus de 2 µ et plus.	»	Le lait devient acide, puis filant, se coagule.	»
…outtes muqueu- … rougeâtres, qui …tendent en un re- …ement continu.	»	»	»	Saprophyte.	La matière colorante ne change ni par les acides ni par les alcalis.
»	»	Coccus ovoïdes asymétriques, de 0,05 µ de grandeur moyenne, en Diplocoques.	»	Les cultures fraîches sont virulentes, mais elles s'atténuent rapidement.	Se décolore par la méthode de Gram.
…ien.	Presque rien.	Coccus ronds souvent en Diplocoques.	»	Pathogène ; les cultures perdent vite leur virulence.	Se décolore par la méthode de Gram.
Belles colonies …nches.	Développement très rapide. Flocons denses et compacts.	Diplocoques de 2,2 µ à 2,5 µ réunis souvent en chaînes à mouvements ondulatoires lents.	Se développe surtout à 35°.	N'est pas pathogène.	Les Diplocoques ont une tendance à s'aligner dans les préparations de cultures. Ne se décolore pas par la méthode de Gram.
Colonies bombées …un jaune-citron.	»	Coccus elliptiques de 1 µ de long.	»	Saprophyte.	»
»	Forme de très longues chaînes en 24 heures à 35°. Le liquide reste limpide, il laisse déposer un sédiment très léger.	Coccus ronds de 1 µ réunis en chapelets sinueux.	Anaérobie facultatif.	Pathogène pour la vache et la chèvre.	Il produit rapidement de l'acide lactique dans le bouillon et le lait.
Mince couche grise …bords festonnés, …venant peu à peu …unâtre.	Troubles en 24 h.	Très petits coccus de 0,2 µ isolés ou en amas, jamais en chaînes.	Anaérobie facultatif.	Pathogène. Les cultures fraîches, injectées dans le trayon d'une brebis, reproduisent la maladie.	Produit de l'acide lactique dans le lait et le bouillon.
»	»	Cellules rondes de 0,05 µ formant de longues chaînes sinueuses.	»	Occasionne chez les souris une gangrène à marche rapide, amenant la mort en trois jours.	»

Tableau résumant les caractères les plus importants

DÉSIGNATION DES ESPÈCES.	HABITAT.	CARACTÈRES DES		
		SUR PLAQUES.	SUR GÉLATINE.	SUR GÉLOSE.
M. oblongus, p. 444	Isolé de la bière.	»	»	
M. ochroleucus, p. 402	Isolé de l'urine.	»	Ramollit la gélatine après avoir donné une mince membrane jaune-soufre au centre, blanchâtre aux bords.	»
M. Pasteuri, p. 366	Salive normale et crachats rouillés de la pneumonie fibrineuse.	Colonies rondes d'un blanc grisâtre croissant lentement.	Ne liquéfie pas. Culture blanche en clou ne se développant que vers 23°.	Gouttelettes brillantes, hyalines, à 35°.
M. prodigiosus, p. 433	Air.	Disques rosés qui s'enfoncent dans la gélatine qu'ils liquéfient.	Liquéfie rapidement. Liquide très trouble rougeâtre; dépôt rose rouge.	Larges bandes d'un rouge-carmin souvent à reflets métalliques.
M. de la pyémie du lapin, p. 419	Eau de viande putréfiée.	»	»	»
M. pyogenes, p. 340	Pus.	Petites colonies discoïdes transparentes, dont le développement s'arrête vite.	Ne liquéfie pas. Colonie muqueuse blanche, assez épaisse.	Petits mamelons blancs à 35°.
M. pyogenes albus, p. 348	Pus.	Colonies blanchâtres liquéfiant la gélatine.	Liquéfie rapidement; liquide laiteux et dépôt blanc.	Large couch[e] blanc grisâtre.
M. pyogenes aureus, p. 339	Pus.	Petites colonies rondes, gris jaune, qui liquéfient rapidement.	Liquéfie rapidement; liquide trouble et dépôt jaune d'or.	Bande épaisse d'u[n] beau jaune d'or.
M. pyogenes citreus, p. 349	Pus.	»	Liquéfie; liquide trouble, dépôt jaunâtre.	Mêmes caractères que *M. pyogene[s] aureus*, mais colora[-]tion jaune - citro[n] foncé.
M. pyosepticus, p. 365	Tumeur cancéreuse non ulcérée.	»	Liquéfie comme *M. pyogenes albus*, mais moins rapidement.	»
M. radiatus, p. 449	Eau.	Colonies blanches, parfois à reflets verdâtres, avec des prolongements qui les font ressembler à des étoiles de mer.	En piqûre, il se forme des prolongements radiaires. Liquéfaction lente.	»
M. rosettaceus, p. 448	Eau.	Gouttelettes gris jaunâtre brillantes. Ne liquéfie pas.	En piqûre, la culture a souvent une forme de rosette.	»
M. roseus, p. 434	Air.	Petits boutons rosés, souvent mamelonnés, qui forment de larges disques.	Culture épaisse, rosée ou de couleur chair, ramollissant très peu la surface de la gelée.	Large bande rosé[e] lisse.

…rincipales espèces du genre *MICROCOCCUS*.

…RES. SUR …E DE TERRE.	SUR BOUILLON.	CARACTÈRES DES CELLULES.	INFLUENCE DE L'OXYGÈNE ET DE LA CHALEUR.	ACTION PHYSIOLOGIQUE.	OBSERVATIONS PARTICULIÈRES.
»	Se cultive très bien dans les solutions sucrées ; il y forme en 24 heures un voile velouté fragile.	Cellules de 1 μ à 2 μ réunies en longs chapelets flexueux.	Aérobie.	Produit de l'acide gluconique aux dépens du glucose.	»
…éveloppe mal.	Le lait a sa surface colorée en jaune après 5 ou 6 jours.	Coccus sphériques de 0,5 μ à 0,8 μ de diamètre, en Diplocoques ou petites chaines mobiles.	Aérobie.	Saprophyte.	Les vieilles cultures exhalent une odeur sulfureuse pénétrante.
»	Très léger nuage dans les vieilles cultures.	Coccus ovoïdes de 1 μ à 1,5 μ, lancéolés, entourés d'une capsule qui fait défaut dans les cultures.	Anaérobie facultatif.	Pathogène. La virulence des cultures se perd rapidement.	Ne se décolore pas par la méthode de Gram.
…che muqueuse …e, rouge-sang …flets métalli-	»	Cellules sphériques ou ovales de 0,5 μ à 1 μ. Obscurément mobiles.	Aérobie.	Saprophyte.	Les cultures dégagent une odeur de triméthylamine.
»	»	Coccus ronds de 0,5 μ.	»	Pathogène pour le lapin.	Infiltration purulente au point d'inoculation, abcès métastatiques dans les organes.
…s de culture ap- …le ; se déve- … à la surface.	Piqueté floconneux grisâtre ; le liquide reste clair.	Coccus sphériques, de 0.8 μ à 1 μ ; en chainettes.	Pas exigeant pour l'oxygène.	Pathogène ; les cultures perdent vite leur virulence.	»
…mbrane blan- …sèche, mince.	Liquide trouble, dépôt blanchâtre.	Cellules rondes ayant en moyenne 1 μ de diamètre.	Conserve très longtemps sa vitalité sans air.	Pathogène.	»
…uche mince, …d'or, tardive.	Trouble rapide à 20° ; dépôt jaunâtre, liquide trouble.	Coccus sphériques, de 0,9 μ à 1,5 μ, isolés ou en petits amas.	Conserve longtemps sa vitalité sans air.	Pathogène.	Les cultures développent une odeur de lait aigre ou de colle de farine fermentée.
»	Grumeaux visqueux blanchâtres.	»	»	Pathogène ; tue les cobayes, lapins et pigeons, pas les chiens.	Chez le lapin, il se forme au point d'inoculation un énorme œdème gélatineux.
»	»	Coccus sphériques de 1 μ en moyenne ; isolés ou en petits amas.	»	Saprophyte.	»
…ulture épaisse, …e brun.	»	Coccus peu mobiles, de 0,8 μ à 1 μ, en petits amas ou en courtes chaines.	»	Saprophyte.	»
»	Mince pellicule à la surface.	Coccus de 0,7 à 1 μ.	»	Saprophyte.	»
»	»	Gros coccus ovoïdes, mesurant 1,4 μ de long, réunis souvent en Diplocoques.	»	Saprophyte.	»

Tableau résumant les caractères les plus importan[ts]

DÉSIGNATION DES ESPÈCES.	HABITAT.	CARACTÈRES		
		SUR PLAQUES.	SUR GÉLATINE.	SUR GÉLOSE.
M. salivarius pyogenes, p. 421.......	Salive.	Colonies rondes d'un blanc opaque, liquéfiant lentement.	Liquéfie lentement; liquide et mince voile visqueux.	Bande épai[sse] jaune-orange.
M. salivarius septicus, p. 421........	Salive dans un cas de fièvre puerpérale.	Colonies grisâtres ne liquéfiant pas.	Ne liquéfie pas. Très petites colonies blanchâtres.	»
M. de la septicémie consécutive au charbon, p. 419..................	Sang charbonneux putréfié.	»	»	»
M. de la septicémie du lapin, p. 419.	Sang de bœuf putréfié.	»	»	»
M. Sornthalii, p. 450...............	Lait.	Disques muqueux d'un blanc sale.	Culture muqueuse. Ne liquéfie pas.	Culture muque[use] grisâtre.
M. subflavus, p. 400................	Mucus vaginal et lochies. Urine et pus d'abcès au sein. Pus blennorragique.	Colonies gris jaunâtre, granuleuses vers le 5e jour.	Liquéfie après avoir donné des colonies d'un jaune d'ocre.	Développem[ent] rapide ; plaq[ue] jaune d'ocre.
M. de la suppuration progressive du lapin, p. 418......................	Sang putréfié.	»	»	»
M. tetragenus, p. 383...............	Crachats et contenu des cavernes des phtisiques.	Petites colonies bombées d'un blanc brillant.	Ne liquéfie pas. Culture blanchâtre.	Colonies ro[ndes] blanches le long [de] la strie.
M. ureæ, p. 438....................	Air; se trouve en abondance dans l'urine ammoniacale.	»	Ne liquéfie pas. Cultures aplaties d'un blanc de porcelaine brillant.	»
M. versicolor, p. 438...............	Air.	Grandes colonies visqueuses verdâtres, à reflets nacrés.	Ne liquéfie pas. Pellicule jaunâtre, nacrée.	»
M. viridis flavescens, p. 363.........	Lymphe de pustules de varicelle.	»	Ne liquéfie pas. Colonie verdâtre en clou.	Culture verd[âtre] à croissance rap[ide].
M. viscosus, p. 445................	Vin et bière filants.	»	»	»
M. viticulosus, p. 446...............	Air.	Colonies formant de petits amas de filaments contournés en vrille.	Ne liquéfie pas. Pellicule blanche d'où partent de longs filaments en vrille se répandant dans la gelée.	»

principales espèces du genre *MICROCOCCUS*.

…RES.		CARACTÈRES DES CELLULES.	INFLUENCE DE L'OXYGÈNE ET DE LA CHALEUR.	ACTION PHYSIOLOGIQUE.	OBSERVATIONS PARTICULIÈRES.
SUR …E DE TERRE.	SUR BOUILLON.				
»	Trouble en deux heures, dépôt blanc.	»	»	Pathogène; produit une suppuration localisée.	Ne se décolore pas par la méthode de Gram.
»	»	Coccus ronds, isolés, par deux ou en amas.	»	Pathogène.	Inoculé sous la peau, tue les lapins, souris, cobayes, en 4 à 6 jours.
»	»	Coccus ronds, de 1 μ à 2 μ, disposés en longs chapelets: légèrement mobiles.	Aérobie.	Pathogène. Le chien, la poule et le cobaye sont réfractaires. La virulence des cultures s'atténue vite.	L'inoculation détermine une septicémie chez le lapin; mort de 18 à 48 heures.
»	»	Coccus ovoïdes mesurant 0,8 μ à 1 μ.	»	Pathogène pour le lapin, chez qui il cause une septicémie.	D'après Davaine, les poules sont réfractaires.
»	»	Coccus de 0,7 μ.	»	Fait fermenter le sucre de lait avec dégagement de gaz.	»
…veloppement …ppréciable.	Trouble à la 15° heure à 35°; dépôt jaunâtre.	Diplocoques de 2 μ à 2,6 μ, jusque 3 μ sur bouillon. Assez mobiles.	»	L'inoculation au lapin cause un abcès.	Se colore par la méthode de Gram.
»	»	Coccus de 0,15 μ.	»	Détermine chez le lapin une suppuration qui tend a s'étendre.	Tue le lapin en 12 jours. Se trouve dans les parois de l'abcès.
»	Dépôt très épais.	Coccus sphériques de 1 μ, en tétrades.	Anaérobie facultatif.	Pathogène; tue les souris blanches et les cobayes.	Les souris de champs et de maisons. les lapins, sont peu sensibles ou réfractaires. Reste coloré par la méthode de Gram.
»	»	Coccus sphériques de 1 μ à 1,5 μ, souvent en longues chaines.	Peut être anaérobie facultatif.	Agent de la fermentation ammoniacale de l'urine.	Les vieilles cultures dégagent une odeur de colle de farine qui fermente.
»	»	Coccus petits, en Diplocoques ou en petits amas.	»	Saprophyte.	»
»	»	»	»	Inoffensif pour les animaux.	»
»	Le liquide se trouble rapidement et devient visqueux.	Coccus en longues chaînes flexueuses.	»	Produit la fermentation visqueuse de certains liquides.	Les cultures dégagent une odeur fade.
»	»	Coccus ovales, de 1,2 μ en gros amas.	»	Saprophyte.	»

2e GENRE. — SARCINA Goodsir.

Créé par Goodsir pour la *Sarcina ventriculi*, ce genre renferme des Bactéries à éléments d'ordinaire sphériques, parfois ovoïdes, qui, par suite de divisions s'opérant successivement dans trois plans différents perpendiculaires les uns aux autres, forment des colonies massives, cubiques, ressemblant à des paquets à faces carrées ou rectangulaires (fig. 196). Les creux qui existent entre chacun des éléments sur les faces et les côtés de ces masses ajoutent encore à la similitude, simulant grossièrement les empreintes des liens ayant servi à ficeler les paquets. Le processus de la division, qui d'une cellule forme une colonie massive, est encore peu connu. D'après Hauser (1), les phénomènes se passeraient de la façon suivante : Une cellule prête à se diviser se partage en deux parties égales et forme ainsi un Diplocoque; chacun des deux éléments du couple se divise alors à son tour suivant la longueur; on obtient ainsi une tétrade dont les quatre éléments se partagent à leur tour par un seul plan, qui coupe en deux la plaquette qu'ils constituent par leur assemblage; c'est ainsi que se forme la masse cubique la plus simple, constituée par huit cellules. Après croissance, les éléments du cube se multiplient d'une façon semblable et donnent des masses de plus en plus considérables. Typiquement, les cellules sont rarement isolées; elles sont au contraire accolées par une matière unissante assez solide. Dans certaines conditions cependant, qui semblent dépendre surtout du milieu où vit l'espèce, elles présentent une grande tendance à se séparer dès la division. Les paquets cubiques n'existent plus; les tétrades sont rares; on n'observe plus que les coccus isolés les uns des autres ou réunis par deux en Diplocoques. Si ce n'étaient les commémoratifs qui ramènent à la forme typique précédemment observée, rien ne pourrait faire distinguer ces *Sarcines* de *Micrococcus*. Parfois, cependant, un simple changement de milieu nutritif peut faire réapparaître la forme normale. Les genres *Sarcina* et *Micrococcus* présentent du reste de grandes affinités et de nombreux points de contact; c'est éga-



Fig. 196. — Schéma de la formation de paquets de Sarcines.

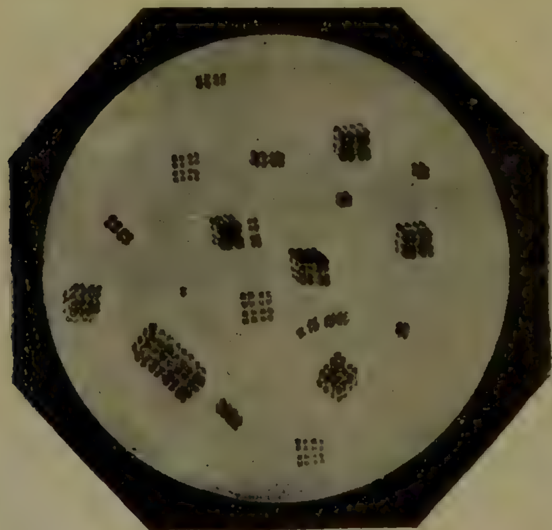


Fig. 197. — Sarcines. 700/1.

(1) Hauser, Ueber Lungensarcine (*Virchow's Arch. für path. Anat.*, 1887, p. 127).

lement l'avis de Stubenrath (1). La *Sarcina ventriculi*, observée dans les vomissements ou dans le contenu stomacal, montre des paquets assez gros, formés d'un grand nombre de cellules, 16, 32 ou 64 par exemple. Cultivée sur milieux solides, elle ne forme plus que les Diplocoques et très peu de tétrades. Une parcelle de cette dernière culture, transportée dans du bouillon à l'étuve, donne rapidement à la surface du milieu nutritif une pellicule écailleuse brunâtre, de la partie inférieure de laquelle se détachent des petits flocons bruns qui nagent dans le liquide ; la pellicule et les flocons contiennent de ces amas de forme caractéristique, d'autant plus gros que la culture est plus âgée. Le contraire peut du reste avoir lieu. Des colonies ne contenant que des cellules rondes, isolées, sont prises pour des cultures de *Micrococcus* et classées comme telles ; la forme de *Sarcine* n'apparaît que plus tard, dans des cultures obtenues avec les premières.

Dans la cavité buccale et l'intestin des poulets, on trouve souvent des Sarcines dont les paquets cubiques de huit éléments présentent un arrangement très régulier en chaînes, de véritables *Streptosarcines*.

Maurea (2) a observé des mouvements bien nets chez une espèce qu'il dénomme *Sarcina mobilis* ; c'est plutôt un *Micrococcus* en tétrade qu'une véritable Sarcine. Sames (3) décrit aussi une Sarcine mobile.

Pendant longtemps la division a été considérée comme le seul mode de reproduction des espèces de ce genre. Récemment Hauser, dans son mémoire précité, a décrit, avec toutes les apparences de vraisemblance, la formation des spores dans une *Sarcine* qu'il a obtenue des crachats d'un phtisique. Certaines cellules isolées augmentent de volume ; leur protoplasma cellulaire devient trouble. La partie centrale la plus considérable de ce contenu se contracte et acquiert une plus grande réfringence, pendant qu'il se forme à sa périphérie une sorte de membrane sombre. Il se constitue ainsi, au bout de peu de temps, un corpuscule arrondi, brillant, très réfringent, mesurant de 0,6 μ à 0,8 μ de diamètre ; la membrane de la cellule mère devient diffluente et peut se dissocier en mettant cette spore en liberté. Ces spores se forment surtout dans les tétrades et dans les paquets cubiques ; on peut en trouver alors soit dans toutes les cellules d'un amas, ou seulement dans une partie, parfois à des degrés de développement différents. Ces corpuscules possèdent les caractères habituels des spores de Bactéries. Elles résistent en particulier à la chaleur beaucoup plus que les cellules végétatives ; des cultures en contenant, portées à 100° dans la vapeur d'eau, ont encore pu être fertiles. La double coloration réussit avec elles, mais il est nécessaire de passer la lamelle jusqu'à trente ou quarante fois dans la flamme pour permettre à la matière colorante de pénétrer. On obtient alors, avec la double coloration à la fuchsine et au bleu de méthylène, des spores colorées en rouge rose et les débris des cellules mères qui les entourent teints en bleu pâle.

Plusieurs observateurs attribuent à la membrane cellulaire des Sarcines la propriété de bleuir par l'acide sulfurique et l'iode ou par le chloro-

(1) Stubenrath, Das Genus Sarcina in morphologischer, biologischer und pathologischer Beziehung mit besonderer Berücksichtigung der Magensarcine. Munich, Lehmann, 1897.

(2) Maurea, Ueber eine bewegliche Sarcine (*Centralbl. für Bakt.*, XI, 1892, p. 228).

(3) Sames, Eine bewegliche Sarcine (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., IV, 1898, p. 664).

iodure de zinc, ce qui indiquerait que cette partie est formée de substance cellulosique. Je n'ai pu vérifier le fait que pour la *Sarcina aurea*. Encore la coloration ne s'observe que sur quelques rares masses isolées, sans que rien puisse expliquer cette différence entre des amas cellulaires en tout semblables. Cette coloration, qui est violet-pourpre avec le chloro-iodure de zinc, est très fugitive ; elle se forme lentement, puis disparaît après quelques secondes. De plus, je n'ai pu observer la réaction qu'avec des cultures sur pomme de terre. Elle semble d'ordinaire bien localisée aux cellules, les colorant fortement ; d'autres fois, elle paraît diffuser dans le milieu ambiant, indiquant peut-être la présence de matière amylacée soluble, produite par l'action des diastases sécrétées par les cellules.

On ne connaît jusqu'ici qu'un petit nombre d'espèces du genre *Sarcina* ; plusieurs formes, habitant les eaux douces, qui avaient été décrites comme telles, sont des Algues appartenant au genre *Merismopedia* ou à des genres voisins.

Lœwenberg (1) a signalé récemment une *Sarcine pathogène* pour les animaux d'expérience ; elle sera décrite plus loin sous le nom de *Sarcina Lœwenbergii*. C'est la première Sarcine qui ait montré des propriétés pathogènes manifestes.

SARCINA VENTRICULI Goodsir.

Cette espèce est fréquente dans le contenu stomacal de l'homme et des animaux ; on l'observe spécialement dans les vomissements ; elle abonde d'ordinaire quand la fermentation des produits accumulés dans l'estomac est favorisée par leur stagnation occasionnée par un état de souffrance de l'organe. Elle a été découverte par Goodsir (2) et étudiée peu après par Lebert et Ch. Robin (3). Elle se trouve parfois en quantité considérable dans le contenu stomacal ; Richter (4) a signalé un cas d'obstruction complète du pylore suivie de mort, qu'il a attribué aux amas de Sarcines. Virchow (5) dit en avoir observé dans un abcès gangreneux du poumon ; on en a rencontré plusieurs fois depuis dans cet organe qui diffèrent beaucoup de la *Sarcina ventriculi*. J.-H. Bennett (6) et Hasse (7) en ont trouvé dans les selles ; Heller (8), dans du mucus diarrhéique. Des Sarcines sont fréquentes dans l'estomac du lapin et du singe ; elles sont très probablement identiques à l'espèce de l'homme. Falkenheim (9) a décrit les principaux caractères de culture de cette espèce et permis ainsi de la différencier facilement des espèces voisines. L'estomac de l'homme renferme du reste souvent plusieurs espèces de Sarcines ;

(1) Lœwenberg, Sur une Sarcine pathogène (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 358).

(2) Goodsir, History of a case in which a fluid periodically ejected from the Stomach contained vegetable Organismus of an undescribed form (*Edinburgh med. and surg. Journ.*, t. LVII, 1842, p. 130).

(3) Ch. Robin, Histoire naturelle des végétaux parasites, p. 331. Paris, J.-B. Baillière, 1853.

(4) Richter, Verstopfung des Pylorus durch Sarcina ventriculi (*Virchow's Arch.*, CVII, 1887, p. 198).

(5) Virchow, Die Sarcina (*Virchow's Arch.*, I, 1847, p. 264).

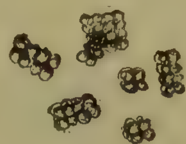
(6) J.-H. Bennett, Lectures on clinical Medicin. Edinburgh, 1851.

(7) Hasse, Beobachtungen über die Sarcina ventriculi, 1847.

(8) Heller, *Griesinger's Arch.*, 1848, et *Arch. für phys. und path. Chemie*, 1852.

(9) Falkenheim, Ueber Sarcina (*Arch. für experim. Path.*, XIX, p. 389, 1885).

Stubenrath (1) avoue qu'il trouve difficile la distinction d'une véritable *Sarcina ventriculi.*


Fig. 198. — *Sarcina ventriculi.* 900/1.

Telles qu'on les observe dans le contenu stomacal, les cellules de la *Sarcine de l'estomac* sont rondes ou légèrement ovales, incolores ou faiblement teintées en jaune. Elles mesurent environ 2,5 μ de long et sont la plupart du temps réunies en petites masses cubiques, à coins ronds (fig. 198), formées d'un nombre plus ou moins considérable de cellules, toujours en multiple de quatre à cause du mode tout spécial de division, 8-16-32-64. Robin donne comme dimensions des plus grosses masses 55 μ de longueur et 20 μ de largeur. Ces masses ont une consistance coriace, élastique. Elles reviennent sur elles-mêmes après une compression. Elles ont, dans les vomissements, une légère teinte brune, sont très transparentes et assez peu réfringentes; sous une assez forte pression ou en faisant agir des alcalis concentrés, les paquets se désagrègent d'abord en masses plus petites, puis en simples éléments.

Les cultures prospèrent sur tous les milieux employés ; elles se développent mieux sur les milieux neutres que sur ceux légèrement acides.

Sur *plaques de gélatine*, au bout de trente-six à quarante-huit heures, il s'est formé de petites colonies rondes, un peu proéminentes, de couleur jaune, dont la croissance s'arrête après peu de temps. A l'examen microscopique, on y trouve des coccus sphériques, incolores, de 1,5 μ de diamètre, réunis la plupart du temps en Diplocoques et parfois en tétrades, mais ne constituant jamais les paquets cubiques caractéristiques. Ces colonies ne liquéfient pas la gélatine.

En *piqûre* ou en *strie* dans un tube de *gélatine*, la culture s'étend rapidement et couvre toute la surface libre de la gelée. Si l'on colore la gélatine avec quelques gouttes de teinture de tournesol bleue avant de l'ensemencer, elle devient tout à fait rouge en quarante-huit heures. Il se produit donc un acide, probablement de l'acide lactique.

Sur *pomme de terre*, il se développe, en vingt-quatre heures, le long de la strie d'inoculation, de petites colonies rondes, incolores, qui deviennent plus tard jaunes ; elles atteignent un millimètre de large et sont alors couleur jaune de chrome.

Sur *sérum*, cette espèce donne de petites colonies rondes, blanches ou faiblement jaunâtres ; le sérum reste solide.

Dans aucune de ces cultures on n'obtient l'arrangement des cellules en paquets, si spécial aux espèces du genre *Sarcina* ; d'après Falkenheim, on l'observe toujours en cultivant dans une infusion de foin cette Sarcine, prise indifféremment dans le contenu stomacal ou dans une des cultures précédentes. Il se forme à la surface de ce milieu, en vingt-quatre heures, une mince pellicule brunâtre, sèche, écailleuse, et au fond du vase de culture un dépôt floconneux brun. Dans la pellicule et le dépôt, on trouve de nombreux paquets de Sarcines. Le développement se fait bien mieux si l'on ajoute à l'infusion de foin 1 à 3 p. 100 de glucose.

L'espèce n'attaquerait ni la fibrine, ni le blanc d'œuf ; très peu les hydrocarbonés (2).

(1) Stubenrath, *loc. cit.*, p. 461.

(2) Coyon, Contribution à l'étude biochimique de la *Sarcina ventriculi* (*Soc. de Biol.*, 16 décembre 1899).

On n'a aucune donnée expérimentale sur l'action de la *Sarcine de l'estomac* sur l'organisme.

SARCINA LŒWENBERGII.

C'est la seule Sarcine pathogène connue. Lœvenberg (1) l'a rencontrée dans les fosses nasales d'une malade atteinte depuis longtemps de punaisie, chez laquelle les caractères cliniques de la maladie différaient radicalement de ceux de l'ozène vrai. Le mucus nasal renfermait de très nombreux paquets de Sarcines.

Dans le mucus nasal, les paquets de Sarcine sont souvent réunis par des filaments fins, pouvant se ramifier. Ces microbes sont immobiles. Ils se colorent facilement aux couleurs d'aniline et restent colorés par la méthode de Gram.

Les cultures s'obtiennent facilement sur les milieux habituels; elles poussent à la température ordinaire et mieux à l'étuve.

Sur *gélatine*, en plaques, les colonies forment de petites taches blanches, laiteuses, bien opaques ; elles deviennent un peu jaunâtres en vieillissant. En piqûre, il se forme à la surface un petit disque blanc et jusqu'au fond du trajet un chapelet de colonies rondes, blanches.

La gélatine n'est jamais liquéfiée.

Sur *gélose*, en strie, on obtient un enduit blanc laiteux, luisant, jaunissant un peu à la longue.

Dans les *milieux liquides* ordinaires, cette Sarcine forme un dépôt blanc, cohérent ; le liquide reste clair.

Elle pousse bien dans le *lait* qui reste alcalin et ne se coagule pas.

Sur *pomme de terre*, elle donne une épaisse culture blanche.

Les cultures ne dégagent jamais d'odeur.

Elle ne pousse pas sur les *milieux acides*.

Dans les cultures sur milieux solides, le microbe perd vite son groupement caractéristique ; bientôt, on ne trouve que des coccus, en amas ou en courtes chaînes. En réensemençant sur milieux liquides, la forme Sarcine reparaît.

Ce microbe se cultive bien en anaérobie, sans dégager ni gaz, ni odeur.

Il est nettement *pathogène* pour les souris blanches, les cobayes et les lapins.

En inoculation sous-cutanée, les souris meurent en vingt-quatre heures, sans lésions appréciables. La Sarcine se retrouve dans le sang.

En inoculation intrapéritonéale, les cobayes et les lapins meurent souvent en vingt-quatre heures. On trouve à l'autopsie une péritonite intense avec de nombreuses Sarcines dans l'exsudat. Le sang du cœur donne des cultures du microbe.

La virulence s'atténue assez vite.

La fétidité de l'haleine a disparu chez la malade en même temps que la Sarcine, sans qu'on puisse établir d'autre relation.

SARCINA LUTEA Schroeter (2).

C'est une Bactérie de l'air qui vient fréquemment contaminer les cul-

(1) Loewenberg, Une Sarcine pathogène (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 358).
(2) Schroeter, Kryptogamenflora von Schlesien. Pilze, 1886.

tures sur plaques. Elle y forme, à la surface de la gélatine, de petites colonies discoïdes, jaunes. Ces colonies sont lentes à croître ; après une huitaine de jours, elles ont donné de petits monticules hémisphériques ou un peu aplatis, à bords droits ou légèrement sinueux, d'une couleur jaune-citron légèrement verdâtre, qui s'enfoncent peu à peu dans la gélatine ; il ne se produit pas de liquéfaction nette, mais la culture se trouve au fond d'une dépression très marquée.

En *piqûre* dans la *gélatine*, il se forme à la surface une masse jaune-canari clair qui couvre toute la partie libre. La gelée est liquéfiée très lentement ; la colonie tombe au fond sous forme d'un dépôt jaune et le liquide reste tout à fait clair.

Sur *gélose*, le développement est plus rapide, surtout à l'étuve ; il se produit une large bande jaune clair, à reflets verdâtres, à surface lisse et brillante, de consistance crémeuse. La culture sur *pomme de terre* a le même aspect, mais est beaucoup plus lente à venir. Le *bouillon* se trouble à peine et montre un très minime dépôt granuleux, jaune sale.

Dans toutes ces cultures, la forme en paquets a disparu. Les cellules sont libres ou unies en Diplocoques, et présentent un mouvement assez vif.

Cette espèce a été signalée sur la peau de l'homme ; c'est elle probablement que Bordoni (1) a isolée. Sa présence en cet endroit n'a rien qui doive étonner, vu sa grande dissémination dans l'air. Elle est aussi commune dans l'eau.

SARCINA AURANTIACA Koch.

C'est aussi une espèce très commune dans l'air et l'eau. Elle s'observe très souvent sur les cultures sur plaques. Les colonies qu'elle y produit sont des petits disques d'un jaune orangé terne qui s'accroissent assez rapidement en largeur et donnent une sorte de pellicule ferme, résistante, s'enlevant en bloc, d'une coloration jaune ocracé, à bords relevés et comme gaufrés. Cette colonie s'est enfoncée peu à peu dans la gélatine qu'elle liquéfie lentement ; elle flotte à la surface de la partie liquéfiée. Ces cultures peuvent atteindre une largeur assez grande, un demi à un centimètre.

En piqûre sur gélatine, elle croît lentement en liquéfiant le milieu. Le liquide est clair et est recouvert d'une pellicule jaune terne.

Sur gélose, il se développe, le long de la strie, une large colonie membraneuse, plissée, de couleur jaune d'ocre.

La croissance sur pomme de terre est lente et se limite à la strie d'inoculation qu'elle recouvre d'une mince bande jaune d'or.

Les colonies des cultures sur plaques sont souvent formées de gros coccus de 2 μ de longueur, isolés ou en Diplocoques ; les masses cubiques y sont rares. Elles s'observent au contraire dans les cultures sur milieux solides.

(1) Bordoni, Ueber die biologische Eigenschafften der normalen Hautmicrophysen (*Fortschr. der Med.*, 1886, n° 5).

SARCINA ALBA (1).

Elle est commune dans les eaux. Les éléments arrondis mesurent 0,88 μ de diamètre et sont immobiles ; certains contiendraient des spores.

En culture sur plaques, les colonies incluses dans la gelée sont de petites sphères grisâtres. Celles qui arrivent à la surface forment un petit bouton blanc grisâtre. Elles liquéfient la gélatine, mais très lentement.

En piqûre sur gélatine, il se développe une semblable culture à la surface et presque rien dans le canal. La liquéfaction, très lente, ne commence que vers le quatorzième jour.

Sur gélose, on obtient une mince colonie blanchâtre, lisse.

Le bouillon se trouble très peu, puis s'éclaircit en abandonnant un mince dépôt floconneux.

SARCINA PULMONUM HAUSER.

Beaucoup d'observateurs ont signalé la présence de Sarcines dans les produits d'expectoration pathologiques, ou dans le tissu lui-même du poumon. Virchow en a trouvé dans la gangrène pulmonaire, Bamberger dans les crachats fétides d'une dilatation des bronches, Friedreich dans un infarctus hémorragique du poumon, Cohnheim dans des cas de tuberculose chronique, Heimer et Nauwerck dans des cavernes; Fischer en a rencontré en grand nombre dans plusieurs affections du poumon et de la bouche. Aucun de ces auteurs cependant n'avait songé à les différencier de la *Sarcina ventriculi*; tous pensaient avoir affaire à cette espèce. Hauser (2), plus récemment, a pu isoler une Sarcine des crachats d'un phtisique et se convaincre, par une étude consciencieuse, qu'elle était spécifiquement différente de la *Sarcine de l'estomac*. Il a donné des détails très intéressants sur ces cultures, qui s'obtiennent facilement sur les milieux habituels.

En *culture sur plaques*, on voit se former, au bout de trois jours, de petits points blanchâtres dans la gélatine; leur croissance est longue, ils ne s'élargissent guère que lorsqu'ils atteignent la surface. Ils y forment de petites colonies ovales très bombées, colorées en brun pâle à la lumière transmise. A un plus fort grossissement, ces colonies semblent formées de gros grains qui, surtout à la périphérie, sont disposés en cercles concentriques.

En *piqûre dans un tube de gélatine*, la culture est bien apparente en vingt-quatre heures. Elle donne en peu de temps, à la surface, une petite colonie ronde, gris-perle, qui en grandissant prend des bords sinueux et un éclat humide, un peu brillant. Dans le canal de la piqûre, on n'observe que de petites colonies punctiformes. La gélatine n'est jamais liquéfiée.

Sur *pomme de terre*, le développement est peu abondant ; il s'y forme une culture brunâtre, peu étendue. De même dans le *bouillon*, où se

(1) ADAMETZ, Die Bacterien der Trink und Nutzwässer, 1888.
(2) HAUSER, Ueber Lungensarcine (*Deutsches Arch. für klin. Med.*, 1887, p. 127).

produit un petit dépôt grisâtre, un peu visqueux; le liquide ne se trouble pas et n'offre pas de voile à la surface.

Dans les jeunes colonies on trouve des Diplocoques, des tétrades ou des petits cubes constitués par huit cellules. Dans les colonies plus développées, il y en a seize et trente-deux. Les cellules mesurent de 1 μ à 1,5 μ. D'après Hauser, leur division s'opérerait de la façon suivante: Une cellule se divisant en deux donnerait un Diplocoque, dont les éléments, se partageant suivant la longueur du couple, produiraient une tétrade ; la tétrade formerait un petit cube par suite de la bipartition de ses quatre éléments par un même plan. Ces cellules, isolées ou réunies, ne manifestent aucune motilité. De véritables spores endogènes prendraient naissance dans des éléments isolés ou agglomérés; leur formation a été décrite précédemment (p. 461). Les spores résistent à une forte chaleur; des cultures en contenant ayant été portées à 110° se sont montrées fertiles.

Cette espèce ne paraît avoir aucune propriété pathogène ; administrée avec les aliments à des lapins, elle ne leur a occasionné aucun trouble ; il existait cependant des tétrades à spores vivantes dans les selles, l'estomac n'en contenait pas. Elle décompose énergiquement l'urée, comme une autre Sarcine, trop peu connue, que Leube (1) a isolée de l'urine.

SARCINA AUREA Macé.

Cette belle espèce a été isolée dans mon laboratoire de l'exsudat du poumon, recueilli à l'autopsie avec les précautions voulues, chez un individu mort d'une pneumonie bâtarde compliquée de pleurésie purulente.

En *piqûre sur gélatine*, les cultures se développent vite, la liquéfaction commence au second jour; le tube est entièrement liquéfié du sixième au huitième jour. Au-dessus du liquide complètement clair, s'est formée une pellicule épaisse, d'un beau jaune d'or, très friable ; au fond est un dépôt blanchâtre peu abondant. La pellicule se brise en morceaux irréguliers à la moindre agitation et tombe au fond du vase. La liquéfaction devient plus lente au fur et à mesure que les cultures vieillissent; en cinquième culture, elle n'apparaît guère avant le sixième jour.

Sur *gélose*, vers 35°, il se produit une bande large et épaisse, à surface verruqueuse, colorée en jaune d'or brillant. Après plusieurs générations, la teinte pâlit et devient jaune pâle.

La *pomme de terre* est un très bon terrain de culture pour cette espèce; on y obtient, en inoculant la surface par plusieurs stries, d'épaisses bandes d'une teinte jaune d'or brillant, à surface plus lisse que celle des cultures sur gélose. Dans les vieilles cultures, le centre prend une coloration jaune blafarde.

La culture dans le *bouillon* est bien particulière. Il se forme au fond du vase un dépôt jaune d'or, de coloration plus claire que celle des cultures sur milieux solides, très cohérent, tout à fait adhérent au verre, s'élevant à 1 centimètre environ du fond sur les parois du vase

(1) Leube, Ueber die ammoniakalische Harngährung (*Virchow's Arch.*, C, 1880, p. 40).

et présentant son bord supérieur libre régulièrement festonné. Le liquide ne se trouble pas et ne montre pas de voile.

Toutes ces cultures renferment l'espèce disposée en paquets caractéristiques de grandeur variable. Ces masses cubiques sont formées d'éléments un peu ovoïdes, mesurant de 1 μ à 1,1 μ de long, que l'on peut trouver aussi, mais rarement, isolés, en Diplocoques ou en tétrades. Ces éléments, isolés ou réunis en masses, possèdent un mouvement oscillatoire très vif. Certains donnent, avec l'acide sulfurique et l'iode, une coloration bleu violet, qui indiquerait chez eux la présence de matière amylacée ou cellulosique. Le pigment est soluble dans l'alcool absolu et donne une liqueur d'un beau jaune d'or.

SARCINA MOBILIS Maurea.

Maurea (1) l'a isolée d'un liquide d'ascite conservé depuis longtemps ; elle venait probablement de l'air.

Les éléments ont 1,5 μ de diamètre ; ils sont le plus souvent réunis en Diplocoques et en tétrades et présentent un mouvement très net de trépidation et même d'ondulation.

Ils se colorent bien aux couleurs d'aniline et restent colorés par la méthode de Gram.

Le microbe se développe bien sur les milieux habituels, mais seulement à la température ordinaire et pas du tout à l'étuve.

Sur *gélatine*, en plaques, on obtient vers le cinquième jour de petites colonies lenticulaires blanchâtres, qui commencent à liquéfier vers le septième ou huitième jour et se colorent alors en rouge-brique. En piqûre, le développement se fait surtout à la surface ; c'est un petit disque rouge-brique qui liquéfie lentement le milieu.

Sur *gélose*, il se forme une culture blanchâtre qui se colore peu à peu comme précédemment.

Sur *pomme de terre*, pas de développement.

Dans le *bouillon*, il se forme un trouble rapide ; puis le liquide s'éclaircit en laissant déposer un sédiment jaune rougeâtre.

Le microbe se développe bien dans le lait sans produire de coagulation.

Sames (2) a rencontré une autre Sarcine mobile dans le purin. Elle reste également colorée par la méthode de Gram et montre de nombreux longs cils par les méthodes de coloration spéciales.

Elle donne sur gélose des colonies blanc grisâtre et sur pomme de terre des taches jaunâtres, brunissant à la longue.

Sur gélatine, elle forme une colonie blanc grisâtre qui ne liquéfie jamais.

Elle n'a montré aucune propriété pathogène.

SARCINA CEREVISIAE Lintner.

(*Pediococcus cerevisiae.*)

Lintner (3) l'a isolée de bières malades ; Adametz (4) la signale dans l'eau.

(1) Maurea, Ueber eine bewegliche Sarcine (*Centralbl. für Bakt.*, XI, 1892, p. 228).
(2) Sames, Eine bewegliche Sarcine (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., IV, 1898, p. 664).
(3) Lintner, Die Sarcina-organismen der Gährungsgewerbe (*Inaug. Dissert.*, Berlin, 1888).
(4) Adametz, Die Bakterien der Trink und Nutzwässer. Vienne, 1888.

Le diamètre des éléments est très variable ; de 0,5 μ dans la bière, il atteint jusqu'à 3 μ dans les milieux riches en azote. Ces éléments sont réunis en tétrades ou en petits paquets, rarement en Diplocoques ou isolés.

Sur plaques de gélatine, cette colonie donne de petites colonies incolores sphériques, à bords lisses. Avec l'âge, elles s'étendent en une couche mince qui donne lieu à un beau jeu de lumière ; le centre prend une teinte jaunâtre.

En piqûre, il se développe une culture blanche, lisse. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur pomme de terre, on obtient de petites colonies granuleuses, jaunâtres.

Cette espèce ne croît pas dans le bouillon de malt stérilisé ; elle ne se développe que lentement dans le moût de bière faiblement alcalin.

Dans les bouillons et les liquides peptonisés, elle forme un voile à la surface. Le liquide devient faiblement acide ; l'acidité est due probablement à de l'acide lactique.

La bière envahie devient verdâtre, de saveur désagréable. Les dégâts causés peuvent être considérables. C'est une véritable infection (1).

SARCINE DE L'URINE.

Hartge (2) a étudié une Sarcine qu'il a isolée d'une urine de diabétique.

Elle ne se développe qu'à la température du corps et au mieux sur de la gélose contenant de l'urine et dans l'urine stérilisée, ou les solutions de glucose. Elle ne croît pas dans les milieux alcalins, mais seulement dans ceux qui sont neutres ou légèrement acides.

Son rôle n'est pas connu. Miquel (3) décrit sous le nom de *Urosarcina Hansenii* une Sarcine qui serait un ferment assez énergique de l'urée.

SARCINA INTESTINALIS Zopf.

Zopf (4) l'a rencontrée dans l'intestin de poulets et de dindons, principalement dans le cæcum. Elle forme presque toujours des colonies disposées par une seule couche en tablettes carrées ou rectangulaires, ou de petits cubes de huit éléments, mais jamais de gros paquets.

Les Sarcines sont fréquentes dans le contenu intestinal, dans le mucus de la bouche, du nez, sur les amygdales.

SARCINA ROSEA Schroeter.

Trouvée dans les marais, entre des Algues. Ce sont des cellules sphériques, ayant jusqu'à 2 μ de diamètre, réunies en petits paquets cubiques, arrondis aux angles, pouvant mesurer 8 μ de long.

(1) Kupfer, Die Sarcina-infektion (*Wochenschr. für Brauerei*, 1896, p. 32).
(2) Hartge, Kulturversuche mit der Harnsarcine (*Petersb. med. Wochenschr.*, 1890, n° 22).
(3) Miquel, Étude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée (*Ann. de micr.*, 1893).
(4) Zopf, Die Spaltpilze, p. 55.

C'est probablement cette Sarcine que Meuge (1) a rencontrée dans du lait qui avait pris une coloration rouge très prononcée. Ce lait montrait une grande quantité de paquets de Sarcines avec leur forme caractéristique.

En culture sur plaques de gélatine, on aperçoit, après quarante-huit heures, de très petites colonies transparentes, rondes, qui, à un faible grossissement, paraissent incolores ou légèrement jaunâtres. Les colonies qui gagnent la surface s'étendent un peu, puis deviennent rosées et liquéfient la gelée autour d'elles. A ce moment, elles affectent souvent la forme d'une rosette ; au milieu se trouve une petite masse rouge, entourée d'anneaux concentriques de même couleur, mais de teintes variées.

En piqûre dans la gélatine, il se forme à la surface une colonie rose rouge, mince, large, et dans la piqûre une minime culture qui va jusqu'au fond. Vers le quatrième jour, la liquéfaction commence et n'atteint les bords du tube qu'après six ou sept semaines.

Sur gélose, la culture, assez abondante, reste longtemps blanche et ne se colore que dans son milieu.

Le bouillon ensemencé reste clair ; il se développe, sur le fond du vase, de petites colonies punctiformes, blanches.

Sur pomme de terre, les cultures sont moyennement épaisses et d'un beau rouge.

Le lait stérilisé se colore rapidement en rouge intense, mais ne paraît subir aucun changement. La couche de crème, qui se sépare par le repos, montre de nombreuses stries rouges; le liquide sous-jacent est rougeâtre.

Le pigment est insoluble dans l'eau et l'alcool, même bouillants.

Les acides étendus ne le modifient pas à froid, mais le détruisent à chaud. L'ammoniaque et les lessives alcalines se comportent comme les acides étendus. Ce pigment est également insoluble dans l'éther, le sulfure de carbone, le chloroforme, la benzine.

Ce microbe ne paraît être pathogène pour aucun des animaux d'expérience.

SARCINA PALUDOSA Schroeter.

D'après Schroeter (2), elle serait fréquente dans les eaux de déchet des fabriques de sucre.

Les éléments sont sphériques, incolores, très réfringents, mesurant jusqu'à 2 μ de diamètre. Ils sont réunis en familles plus grosses et moins régulières que celles de la *Sarcine de l'estomac*, et présentant les coins et les angles de séparation des cellules plus arrondis.

Gruber (3) a donné récemment une intéressante revision du genre *Sarcine*, en décrivant plusieurs espèces nouvelles ; il a établi la clef dichotomique suivante qui peut rendre de bons services pour la détermination :

(1) Meuge, Ueber roth Milch (*Centralbl. für Bakt.*, VI, 1889, p. 596).
(2) Schroeter, Kryptogamenflora von Schlesien.
(3) Gruber, Die Arten der Gattung Sarcina (*Arb. aus dem Bakt. Inst. der techn. Hochschule zu Karlsruhe*, I, 1895, 2, p. 239).

I. Espèces dont les cultures sur milieux solides ont une couleur blanche.

1. *Formant des paquets typiques sur les milieux solides et liquides.*
   - a. Liquéfiant la gélatine.
     - α. Colonies rondes en cultures sur plaques.
       - A. Liquéfiant lentement la gélatine.... *Sarcina alba* Zimmermann.
       - B. Liquéfiant rapidement la gélatine.... *Sarcina alutacea* Gruber.
     - β. Colonies irrégulières en cultures sur plaques.
       Liquéfiant rapidement la gélatine....... *Sarcina incana* Gruber.
   - b. Ne liquéfiant pas la gélatine.
     - α. Colonies rondes en cultures sur plaques.. *Sarcina pulchra* Henrici.
     - β. Colonies irrégulières en cultures sur plaques.
       - A. Développement bien net à la surface. *Sarcina pulmonum* Virchow.
       - B. Pas de développement à la surface.
         Troublant l'infusion de foin........ *Sarcina lactea* Gruber.
         Ne troublant pas l'infusion de foin.. *Sarcina vermicularis* Grub. *Sarcina minuta* de Bary.

2. *Ne formant de paquets typiques que dans les milieux liquides.*
   - a. Liquéfiant la gélatine.
     - α. Ne formant de paquets que dans l'infusion de foin.................................. *Sarcina candida* Reinke.
     - β. Ne formant de paquets que dans le bouillon. *Sarcina albida* Gruber.
   - b. Ne liquéfiant pas la gélatine.
     - α. Ne croissant pas sur gélatine............ *Sarcina Welkeri* Roman.
     - β. Croissant sur gélatine.
       - A. Formant des paquets dans le bouillon. *Sarcina nivea* Henrici.
       - B. Formant des paquets dans l'infusion de foin.......................... *Sarcina ventriculi* Goodsir.

II. Espèces formant de la matière colorante.

§. *Matière colorante jaune.*

1. *Formant des paquets typiques sur les milieux solides et liquides.*
   - a. Liquéfiant la gélatine.
     - α. Colonies rondes en cultures sur plaques.
       - A. Croissance lente, liquéfaction rapide de la gélatine....................... *Sarcina flava* de Bary.
       - B. Liquéfaction de la gélatine lente à se produire.
         Le bouillon reste clair ; des paquets se forment dans tous les milieux...... *Sarcina superba* Henrici.
         Le bouillon reste clair ; il ne se forme de paquets que dans la gélatine et le bouillon............................ *Sarcina olens* Henrici.
         Le bouillon se trouble au début, puis s'éclaircit; il se forme des paquets dans tous les milieux................ *Sarcina aurescens* Gruber.
     - β. Colonies irrégulières en cultures sur plaques.
       Formant des paquets dans tous les milieux................................ *Sarcina liquefaciens* Frankland.
     - γ. La liquéfaction de la gélatine devient très lente à partir de la cinquième culture ; le bouillon reste clair avec un dépôt jaune d'or.................................. *Sarcina aurea* Macé.

b. Ne liquéfiant pas la gélatine.
  α. Colonies rondes en cultures sur plaques.
    A. Croissance lente.................... *Sarcina lutea* Schroeter.
    B. Formant des paquets typiques dans tous les milieux ; troublant le bouillon et l'infusion de foin................. *Sarcina livida* Gruber.
    C. Formant des tétrades dans le bouillon, des paquets dans l'infusion de foin ; ne troublant ni le bouillon ni l'infusion de foin....................... *Sarcina meliflava* Gruber.
  β. Colonies irrégulières en cultures sur plaques..............................
    A. Formant des paquets typiques dans tous les milieux.
      Croissance rapide sur gélatine, lente sur la gélose............. *Sarcina luteola* Gruber.
      Culture vermiforme sur gélatine en strie........................... *Sarcina vermiformis* Gruber.
      Matière colorante d'un jaune-citron franc......................... *Sarcina citrina* Gruber.
      Colonies se réduisant en poudre jaune.......................... *Sarcina striata* Gruber
      Montrant un développement bien net en surface................. *Sarcina marginata* Gruber.
    B. Ne formant de paquets que dans les milieux liquides.
      Dégageant du gaz................ *Sarcina gazoformans* Grub.

2. *Ne formant de paquets que dans les milieux liquides.*
  a. Colonies rondes en cultures sur plaques ; liquéfiant la gélatine.
    Matière colorante d'un jaune-soufre brillant ; liquéfaction lente de la gélatine... *Sarcina flavescens* Henrici.
    Matière colorante jaune orangé ; liquéfaction rapide de la gélatine............... *Sarcina aurantiaca* Koch.
  b. Colonies irrégulières en cultures sur plaques. Ne liquéfiant pas la gélatine.
    Bouillon trouble au début, clair plus tard. *Sarcina sulfurea* Henrici.
    Bouillon et infusion de foin restant toujours clairs.......................... *Sarcina velutina* Gruber.
  c. Colonies irrégulières au début, rondes plus tard.
    Bouillon à trouble léger et constant ; infusion de foin toujours claire............ *Sarcina intermedia* Gruber.

§§. *Matière colorante rose.*

1. Formant des paquets typiques dans les milieux liquides et solides ; ne liquéfiant pas la gélatine ; colonies rondes en cultures sur plaques.
  Des paquets dans le bouillon, des coccus et des Diplocoques dans l'infusion de foin, des paquets sur les milieux solides ; pigment rose-chair................................. *Sarcina carnea* Gruber.
  Des coccus dans toutes les cultures, à côté des paquets ; matière colorante du rose pâle au rouge de viande.......................... *Sarcina incarnata* Gruber.
2. Ne formant de paquets typiques que dans les liquides.
  a. Liquéfiant la gélatine...................... *Sarcina rosea* Schroeter.
  b. Ne liquéfiant pas la gélatine............... *Sarcina persicina* Gruber.

§§§. *Matière colorante brune.*

1. Des paquets typiques sur les milieux solides et liquides ; ne liquéfiant pas la gélatine......... *Sarcina fusca* Gruber.
2. Ne formant de paquets que dans les liquides ; ne liquéfiant pas la gélatine...................... *Sarcina fuscescens* de Bary.

3e GENRE. — LEUCONOSTOC Van Tieghem.

Les cellules rondes, incolores, très petites, sont unies en chapelets flexueux, entourés d'une gaine épaisse de gelée de consistance ferme, cartilagineuse. Ces gaines forment, par leur accolement en certain nombre, des masses irrégulières, lobées, présentant des circonvolutions à la surface et acquérant la dureté du cartilage. Dans les chapelets, il se forme des spores, provenant de la transformation directe de certaines des cellules, qui deviennent grandes et prennent une membrane plus épaisse et un contenu plus réfringent. Ces spores sont séparées les unes des autres ; elles se trouvent comprises dans le chapelet ou à ses extrémités.

Les *Leuconostoc* ne sont peut-être que des Streptocoques munis d'une épaisse gaine de gelée.

Ce genre ne renferme qu'une seule espèce bien connue.

LEUCONOSTOC MESENTEROIDES Cienkowsky.

Les Zooglées de cette espèce forment des masses gélatineuses mesurant de la grosseur d'une noisette à celle du poing, à surface mamelonnée, de consistance ferme et élastique. On les observe fréquemment dans les sucreries, sur les appareils qui servent à l'obtention des jus sucrés de betteraves et, plus rarement, dans les sirops cuits. Leur apparence et leur consistance leur font donner en France le nom vulgaire de *gomme de sucrerie*, et, en Allemagne, celui de *frai de grenouille* (*Froschlaich*).

Le développement en a été étudié simultanément par Cienkowsky (1), et, beaucoup plus complètement, par Van Tieghem (2), puis par Liesenberg et Zopf (3).

Les cellules végétatives sont sphériques, mesurant de 0,8 μ à 1,2 μ; celles qui se préparent à se diviser sont plus longues et de forme ovale ou en courts bâtonnets à extrémités arrondies. Les cellules (fig. 199 ; *4*, *5*, *6*, *7*) sont réunies en nombre variable, en chapelets dont les grains restent séparés par une courte distance tant que le développement est actif; lorsque le développement est terminé, les grains se touchent et sont alors régulièrement sphériques (fig. 199 ; *9*). Chacun de ces chapelets est entouré d'une gaine gélatineuse mesurant de 6 μ à 20 μ, six à vingt fois environ le diamètre d'un grain. Ces boudins gélatineux se recourbent et se pelotonnent, en se serrant fortement (fig. 199 ; *6*, *7*), et donnent un tubercule blanchâtre, transparent, compact, à surface mamelonnée, vermiculée. Ce tubercule s'accroît et prend une consistance assez ferme pour qu'on puisse y pratiquer facilement des coupes au rasoir. Par suite de la pression que les tubes gélatineux exercent les uns sur les

(1) Cienkowsky, Ueber die Gallertbildungen der Zuckerrübensaftes. Charcow, 1878.

(2) Van Tieghem, Sur la gomme de sucrerie (*Ann. des sc. nat.*, *Bot.*, VII, 6e série, 1878).

(3) Liesenberg et Zopf, Ueber den sogenannten Frochslaichpilz (Leuconostoc) der europaischen Rübenzucker, und der javanischen Rohrzuckerfabriken (*Beitr. zür Phys. und Morph. niederer Organismen de Zopf*, Heft I, 1892).

autres, la masse interne prend l'aspect d'un pseudo-parenchyme (fig. 199 ; *8*).

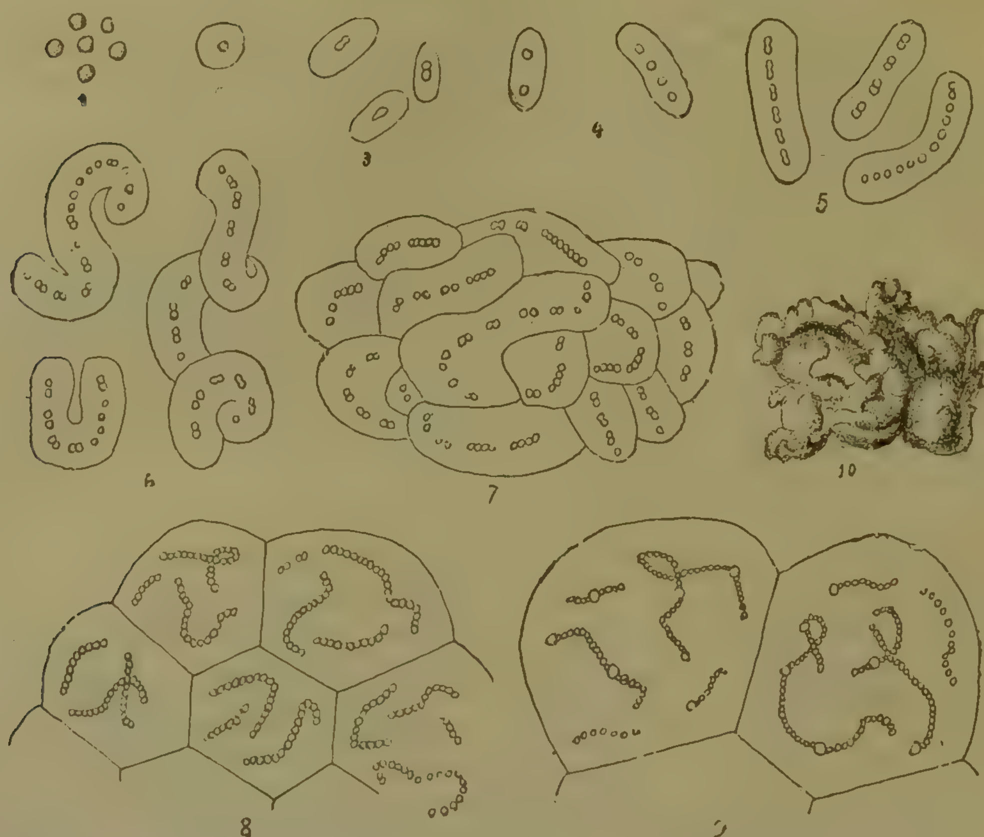


Fig. 199. — *Leuconostoc mesenteroides* : *1*, spores isolées ; 2, spores germant ; *3*, *4*, *5*, *6*, formation des chapelets entourés de leur gaine ; 7, chapelets pelotonnés ; *8*, coupe d'une Zooglée ayant terminé son accroissement ; *9*, coupe d'une Zooglée âgée ; les spores se sont formées dans les chapelets ; *10*, petite Zooglée de grandeur naturelle. Les figures 1-9 sont grossies 520 fois (d'après Van Tieghem).

Quand le liquide nutritif est épuisé, la Zooglée cesse de s'accroître et commence à dépérir. C'est à ce moment que se forment les spores. Certaines cellules des chapelets (fig. 199 ; *9*) grossissent tout en restant sphériques, gagnent une membrane épaisse et un contenu très réfringent. Ce sont de véritables spores durables, qui mesurent de 1,8 μ à 2 μ. Ces spores peuvent se trouver aux extrémités des chapelets ou être intercalées aux autres cellules ; elles sont toujours séparées les unes des autres par un certain nombre de cellules végétatives. Les conditions mauvaises continuant à agir, la masse gélatineuse se dissocie et les différents éléments des chapelets sont mis en liberté dans le liquide. Souvent les cellules végétatives, ne trouvant pas les conditions de vie qui leur conviennent, meurent ; les spores résistent aux causes diverses de destruction et gardent même longtemps leur puissance germinative. Si la spore est transportée dans un milieu nutritif nouveau, elle germe immédiatement. La couche externe dure de la membrane se brise, la couche moyenne se gonfle beaucoup et forme une épaisse enveloppe de gelée autour de la couche externe, mince et transparente, qui entoure le protoplasma central (fig. 199 ; *1*, *2*). Ce coccus s'allonge, donne un court bâtonnet qui s'étrangle en son milieu et se scinde bientôt en deux élé-

ments (fig. 199; 3). C'est le commencement des chapelets que nous connaissons.

Dans des jus sucrés, la végétation peut être extrêmement rapide, si de bonnes conditions de température et d'aération se trouvent réunies. D'après Durin (1), 50 hectolitres de dissolution de mélasses à 10 p. 100 de sucre ont été transformés en une masse gélatineuse compacte douze heures après avoir été versés dans une cuve où du jus de betteraves avait séjourné pendant quelques jours. On comprend que cette Bactérie puisse devenir un ennemi redoutable pour les sucreries. Le *Leuconostoc mesenteroides* intervertit le sucre à l'aide d'invertine qu'il sécrète, puis se nourrit du sucre interverti qu'il brûle complètement. On le cultive très bien dans une solution de sucre de canne à laquelle on ajoute de petites quantités de nitrate et de phosphate alcalins.

Le nom de *fermentation cellulosique* du sucre, qui a été employé, est impropre. Il n'y a d'abord pas fermentation, comme nous venons de le voir; ensuite la matière gélatineuse produite par le développement de cet être vivant n'est pas de la cellulose; elle n'en possède aucunement les propriétés; entre autres, elle ne se dissout pas dans le liquide cupro-ammoniacal. Ce n'est pas non plus une substance albuminoïde; l'iode, qui jaunit les cellules des chapelets, est sans action sur elle. C'est une matière ternaire qui paraît être voisine de la dextrine, à laquelle Scheibler (2) donne le nom de *dextrane*, en la rapprochant de la viscose de la fermentation visqueuse.

Liesenberg et Zopf ont pu obtenir des cultures pures de cette espèce, en maintenant pendant un quart d'heure à la température de 75° des Zooglées dans la partie gélatineuse desquelles se trouvait en abondance une courte Bactérie en bâtonnets. Certaines cultures pures sont très caractéristiques.

L'espèce ne liquéfie pas la gélatine.

En strie, sur gélatine, additionnée de sucre de canne, elle forme après dix à quinze jours une masse épaisse, blanchâtre, formée de petites sphères gélatineuses, à partie libre transparente comme du verre, le tout ressemblant à une cristallisation en croûtes. La consistance en est au début sèche, élastique, cartilagineuse; elle devient molle plus tard.

En piqûre, dans l'intérieur de la gelée, les colonies sont sphériques, verruqueuses, ressemblant à des grains de sagou.

Sur navet ou sur betterave, on obtient d'épaisses Zooglées semblables d'aspect à la culture cartilagineuse qui vient d'être décrite (3).

Dans les milieux liquides renfermant 10 p. 100 de sucre de canne et 1 p. 100 de peptone, il se forme d'épaisses Zooglées gélatineuses. Dans le bouillon peptonisé, sans sucre, le développement de la gelée est très minime ou nul.

Ludwig (4) a décrit sous les noms de *Leuconostoc Lagerheimii* une espèce qu'il a rencontrée, avec des Levures et des Moisissures, dans une

(1) Durin, Sur la transformation du sucre cristallisable en produits cellulosiques (*Ann. des sc. nat.*, *Bot.*, 6e série, III, 1877, p. 266).

(2) Scheibler, Recherche sur la nature du dépôt dit « frai de grenouille » (*Journ. des fabricants de sucre*, novembre et décembre 1874).

(3) Zopf, Die Spaltpilze, p. 72.

(4) Ludwig, Ueber Alcoholgährung und Schleimfluss lebender Bäume (*Bericht der deutschen bot. Gesellschaft*, IV, 1886).

sorte de maladie de la gomme des chênes. Elle ressemble beaucoup au *Leuconostoc mesenteroides* et n'en doit très probablement pas être distinguée. Les éléments ronds mesurent de 0,6 à 0,8 μ de diamètre ; ils se colorent très facilement au violet de gentiane.

Ce *Leuconostoc* donne sur la gélatine de petites colonies sphériques ou lenticulaires presque hyalines, qui liquéfieraient le milieu. Cultivé dans des sucs de fruits, il les rend très visqueux, même gélatineux.

Koch et Hosaeus (1) ont observé une gomme de sucrerie produite par une Bactérie en bâtonnets, sécrétant une longue gaine gélatineuse pédiculée ; ils proposent de la nommer *Bacterium pediculatum* (Voir fig. 5, p. 18). Glaser (2) cite son *Bacterium gelatinosum betae* comme pouvant produire une semblable maladie des jus sucrés de betterave. Ce sont là des espèces encore imparfaitement connues.

4e genre. — ASCOCOCCUS Billroth.

La dénomination est de Billroth (3); c'est Cohn (4) qui en a précisé les caractères, en décrivant, mieux que ne l'avait fait le premier observateur, la seule espèce connue de son temps.

Les cellules, rondes, incolores, très petites des coccus, sont réunies, par de la gelée peu abondante, en familles sphériques ou ovoïdes, à surface régulière ou mamelonnée, entourées d'une épaisse capsule hyaline, de consistance cartilagineuse.

Ce genre *Ascococcus* ne peut être considéré que comme une coupe provisoire. Il n'y aurait peut-être pas lieu de le séparer du type *Micrococcus*. D'un autre côté, les *Ascococcus* se rapprocheraient aussi des formes qui seront décrites plus loin comme *Ascobacterium* ou *Ascobacillus*.

ASCOCOCCUS BILLROTHII Cohn.

L'espèce a été signalée par Billroth dans l'eau de viande putréfiée ; elle a été plus tard retrouvée par Cohn, se développant dans la liqueur minérale qui porte son nom.

Elle forme à la surface des liquides une peau épaisse et visqueuse d'apparence laiteuse, un peu jaunâtre, rappelant la crème qui se forme à la surface du lait cuit. Cette membrane est peu résistante ; en la soulevant avec une baguette de verre, elle se brise en flocons qui se répandent dans le liquide. Elle est constituée par de nombreux éléments, présentant la disposition en familles si caractéristique. Ce sont des cellules sphériques, incolores, de très faible diamètre, formant par leur réunion un nombre considérable de petites masses rondes, ovoïdes ou elliptiques, régulières ou mamelonnées. Ces coccus sont serrés les uns contre les autres et ne laissent voir entre eux que très peu de la gelée qui les unit.

(1) Koch et Hosaeus, Ueber einen Froschlaich der Zuckerfabriken (*Centralbl. für Bakt.*, XVI, 1894, p. 225).

(2) Glaser, Zur Gallertausscheidung in Rübensäften (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., I, p. 879).

(3) Billroth, Coccobacteria septica. Berlin, 1874.

(4) Cohn, Untersuchungen ueber Bacterien, II (*Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, 1er vol. 2e p., 1875, p. 151).

Les familles ont, en moyenne, de 20 à 60 μ de diamètre ; certaines atteignent 160 μ. Chacune d'elles est entourée d'une épaisse capsule transparente, de consistance dure, cartilagineuse, difficile à briser même par une forte pression. Cette enveloppe ne se dissout pas dans l'ammoniaque concentrée et ne se colore pas en jaune par l'iode, qui teint au contraire les amas de cellules qu'elle renferme : elle semble se rapprocher par là des membranes de constitution ternaire. Chez les familles de grande taille, elle mesure de 10 à 15 μ d'épaisseur.



Fig. 200. — *Ascococcus Billrothii :* I, grosse colonie formée de huit familles ; — II, colonies isolées: *a*, petite colonie; *b*, grosse colonie mamelonnée avec épaisse capsule (d'après Cohn).

On ne connaît que peu de détails des cultures de cette espèce. Elle se cultive très bien dans la liqueur minérale de Cohn avec les caractères énoncés plus haut ; elle y développe rapidement une odeur de lait aigri ou d'acide butyrique, puis la réaction acide du milieu devient rapidement alcaline. Il se dégage de l'ammoniaque, facile à reconnaître avec une baguette de verre imprégnée d'acide chlorhydrique. Elle croît luxueusement sur des tranches de navets ou de betteraves cuits en donnant de grosses Zooglées blanches, légèrement verdâtres. Dans le jus sucré de betteraves, elle produirait une sorte de fermentation visqueuse, en transformant le sucre en un produit gommeux ; il se forme en même temps de l'acide butyrique.

Son habitat est l'air ; Cohn l'a obtenue en faisant barboter de l'air dans du liquide nutritif. Il est probable qu'on n'en a pas observé jusqu'ici de culture pure ; ce dernier observateur ne l'a eue que mélangée avec d'autres *Micrococcus*.

ASCOCOCCUS EQUI.

(*Botryomyces equi de Böllinger, Discomyces equi de Rivolta, Micrococcus ascoformans de Rabe.*)

C'est probablement à côté de l'*Ascococcus Billrothii* qu'il faut placer l'organisme découvert en 1870 par Böllinger (1) dans la *Botryomycose* du cheval.

(1) Bollinger, Mycosis der Lunge beim Pferde (*Virchow's Arch.*, XLIX, 1870, p. 583).

Il se rencontre en abondance dans les tumeurs fibromateuses spéciales, tantôt de petite taille, comme dans le poumon où on en rencontre de l'aspect et de la grosseur des tubercules ordinaires, tantôt de taille considérable, comme celles qui se développent dans le cordon testiculaire à la suite de la castration ou dans la cavité abdominale. De ces tumeurs fibreuses peuvent du reste se rencontrer un peu partout. Elles sont dures, lardacées, ou ramollies, laissant écouler, par un ou plusieurs orifices, un pus jaunâtre, grumeleux. Exceptionnellement, des lésions semblables se rencontrent chez les bovidés et le porc (1). Poncet et Dor (2) ont retrouvé le même microbe dans diverses tumeurs de l'homme.

Le microbe en question se trouve en grand nombre dans la masse des tumeurs ou les grumeaux du pus. Il est accompagné d'habitude des Bactéries ordinaires de la suppuration, ou d'autres espèces, le *Micrococcus de la septicémie du lapin*, par exemple, qui jouent dans l'évolution de la maladie un rôle encore indéterminé.

Les éléments de l'*Ascococcus equi* sont des coccus arrondis, mesurant de 1 μ à 1,5 μ de diamètre et réunis, souvent en très grand nombre, pour former des masses ovoïdes mesurant de 10 μ à 100 μ et plus de longueur. Chacune de ces masses est entourée d'une sorte de capsule homogène, transparente et incolore. Les coccus se colorent facilement aux couleurs d'aniline, la capsule pas.

Rabe (3) a obtenu des cultures sur gélatine peptonisée et sur pomme de terre.

Sur *gélatine*, en *piqûre*, on obtient une traînée blanchâtre dans le canal et la gelée se creuse et se liquéfie peu à peu à la partie supérieure.

Sur *pomme de terre*, il se forme un léger revêtement jaunâtre, mat ; il se produit une odeur agréable, rappelant la fraise.

Sur *gélose glycérinée*, d'après Kitt, on obtient une colonie orangée.

Les souris paraissent réfractaires à l'inoculation de cultures, qui détermine une véritable septicémie chez le cobaye. Chez le cheval, on observe un œdème inflammatoire qui se dissipe en huit ou dix jours; puis, quatre ou six semaines après, il se produit de l'empâtement du tissu conjonctif, une sorte de tumeur dans laquelle on sent des nodosités plus dures qui peuvent s'ouvrir en laissant échapper un pus clair et visqueux montrant des quantités d'amas formés d'*Ascococcus* de différente taille (4).

2e Famille. — BACTÉRIACÉES.

Ce groupe renferme des Bactéries dont les éléments, allongés suivant une direction, ont une longueur qui l'emporte sur la largeur. La forme typique est le *bâtonnet*; il est tantôt court et trapu, apparaît en coupe optique presque comme un carré ou comme un court rectangle ; tantôt sa lon-

(1) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux, 2e éd., p. 536.

(2) Poncet et Dor, De la botryomycose humaine (*XIe Congrès franç. de chir.*, 1897). — Poncet et Bérard, Traité clinique de l'actinomycose humaine; pseudo-actinomycose et botryomycose, 1898. — Ten Siethoff, Un cas de botryomycose observé chez l'homme (An. in *Sem. méd.*, 1898, n° 37, p. 302).

(3) Rabe, Ueber mykotiche Bindgewebswucherung bei Pferden (*Deutsche Zeitschr. für Thiermed.*, XII, 1886).

(4) Voy. aussi : Bollinger, Ueber Botryomycose bei Pferd (*Ibid.*, XIII, 1887, p. 176), et Kitt, Der Micrococcus ascoformans und das Mykofibrom des Pferdes (*Centralbl. für Bakt.*, III, 1888, p. 177, 207 et 246).

gueur dépasse un certain nombre de fois sa largeur. La première de ces dimensions peut devenir très grande par rapport à l'autre ; c'est la forme de *filament*. Les bâtonnets ou les filaments sont droits ou courbés. La courbure peut être très simple et ne représenter qu'une faible portion de circonférence ; elle peut être compliquée : l'élément décrit une spire à tours plus ou moins nombreux, plus ou moins serrés. Quelles que soient la forme ou la longueur de ces éléments, on ne leur distingue jamais d'extrémité antérieure et d'extrémité postérieure, de base ni de pointe ; les mouvements, lorsqu'ils existent, paraissent toujours se faire également dans les deux sens, et quand des individus se fixent ou plutôt s'accolent à un support, leur partie fixée ne diffère en rien de celle qui reste libre.

Beaucoup d'espèces possèdent de véritables spores endogènes ; en variant les conditions de vie, on arrivera probablement à en reconnaître à la majeure partie des types de cette famille. Ces spores se produisent dans les cellules mères par condensation du protoplasma ; elles sont tantôt plus grosses, ou plus petites que la cellule où elles se sont formées, tantôt égales à elle en largeur. Il ne paraît pouvoir se former qu'une seule spore par cellule ; c'est ce qui se passe effectivement dans toutes les espèces où ce phénomène a été suivi avec toute la précision désirable. Dans les cas où plusieurs spores semblent coexister dans un même article, il a dû au préalable s'y former des cloisons, que leur grande minceur et leur extrême transparence rendent souvent difficiles à voir.

Nous avons réuni dans cette seconde famille les quatre genres suivants :

1er genre : *Bacillus*. Éléments en forme de bâtonnets, courts ou longs, droits ou légèrement courbés.

2e genre : *Spirillum*. Éléments courbés, pouvant décrire une partie de circonférence ou une hélice à plusieurs tours.

3e genre : *Leptothrix*. Longs filaments simples, droits ou parfois ondulés.

4e genre : *Cladothrix*. Longs filaments droits ou ondulés, ramifiés d'une façon souvent assez régulière.

1er GENRE. — **BACILLUS** COHN.

Ce genre a été créé par Cohn (1) en 1872, pour les Bactéries en bâtonnets dont la longueur dépassait un certain nombre de fois la largeur. C'était chez ces seules espèces que l'on connaissait de véritables spores endogènes.

La longueur relative était le seul caractère qui le distinguait du genre *Bacterium*. Nous savons que ce caractère ne peut être considéré comme absolu, mais qu'il varie au contraire dans des limites très larges, pour des conditions de vie qui peuvent être considérées comme normales. De sorte que, suivant le milieu dans lequel elle évolue, une espèce pourrait être alternativement rangée dans le genre *Bacillus* et le genre *Bacterium*. C'est ainsi que chez le *Bacillus megaterium* (fig. 201) les cellules végétatives ordinaires sont des bâtonnets assez longs (*1*, *9*), les cellules qui vont produire des spores sont très courtes, presque carrées (*2*, *3*, *4*, *5*, *6*). Des spores ont été constatées du reste chez d'anciennes espè-

(1) COHN, Beiträge zur Biologie der Pflanzen, I, 2e p., p. 173.

ces de *Bacterium* et permis ainsi de réunir dans un même groupe ces deux types si semblables.

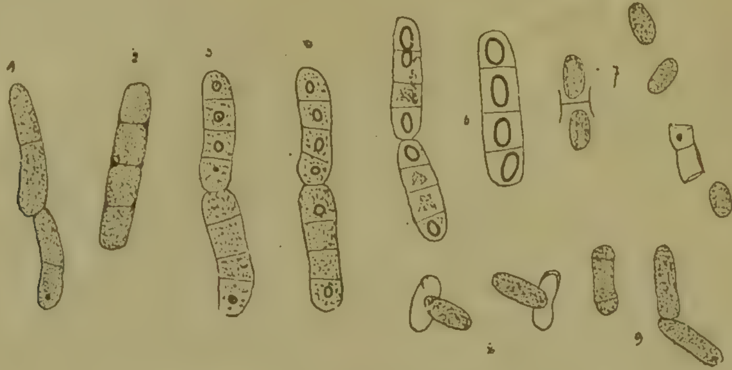


Fig. 201. — *Bacillus megaterium*. 600/1 (d'après De Bary).

Davaine (1) avait cru devoir distinguer autrefois un genre *Bacteridium*, caractérisé par l'immobilité des éléments à tous les stades de leur existence. Il l'avait établi pour la *Bactérie du charbon* et quelques autres observées dans l'intestin et les infusions. Mais l'absence ou la présence de mouvements n'offre jamais de constance suffisante pour en faire un caractère spécifique. Un grand nombre d'espèces, très mobiles à une certaine phase de leur existence, deviennent complètement immobiles à la période suivante ou seulement quand les conditions de vie, tout en restant bonnes, viennent à changer ; beaucoup deviennent inertes, par exemple au moment de la sporulation. Les Bactéries mobiles ne diffèrent du reste des immobiles par aucun caractère de valeur.

Le genre *Vibrio* d'Ehrenberg était trop peu homogène pour être conservé. Le plus grand nombre de ses espèces sont de vrais *Bacillus*, le restant des *Spirillum*. Il en reste la dénomination française de *Vibrion*, que l'on ne doit pas considérer comme un terme de classification, mais comme une simple expression de valeur générale. Elle a été très employée par l'école de Pasteur, qui l'a appliquée à bien des Bactéries mobiles, *Micrococcus* ou *Bacillus*. Le *Vibrion pyogène* est un *Micrococcus* ; le *Vibrion lactique*, le *Vibrion butyrique*, le *Vibrion septique*, sont des *Bacillus*.



Fig. 202. — Bactérie du charbon symptomatique (d'après Arloing, Cornevin et Thomas).

Il en est de même du genre *Clostridium* établi par Prazmowsky (2) pour le *Bacillus butyricus* et d'autres espèces dont les bâtonnets se renflent à l'endroit où se produit la spore, et prennent ainsi une forme en fuseau, en massue, en têtard, en battant de cloche. La figure 202, qui représente des spores d'une des espèces types de ce genre, la *Bactérie du charbon symptomatique*, montre l'inconstance et l'irrégularité de ce caractère.

(1) Davaine, art. Bactérie du *Dict. encyclop. des sc. méd.*, 1868, reproduit dans l'*Œuvre de Davaine*, Paris, 1889, p. 409.

(2) Prazmowsky, Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterienarten. Leipzig, 1880.

Duclaux (1) a groupé sous la désignation de *Tyrothrix*, sans toutefois lui attribuer une valeur générique, toute une série d'intéressantes espèces qu'il a rencontrées dans les fermentations des albuminoïdes, en particulier de la caséine du lait. Ces *Tyrothrix* appartiennent tous au genre *Bacillus*, tel que nous le comprenons ici.



Fig. 203. — Colonie de *Proteus* sur plaques de gélatine.

Les espèces désignées par Hauser (2) sous le nom générique de *Proteus* ne peuvent être séparées des Bacilles vrais. La variabilité de forme des éléments tient, nous l'avons dit déjà, surtout aux changements introduits dans la composition du milieu. Ces changements d'aspect n'ont du reste pas la valeur que leur assigne l'auteur ; ses formes spiralées ne sont que des filaments enchevêtrés et ses coccus sont souvent des spores. Quant aux particularités intéressantes que présentent les colonies en culture sur plaques de gélatine (fig. 203), particulièrement la mobilité dans la gelée, elles sont loin d'être aussi distinctes et spéciales que le veut Hauser. Beaucoup d'autres espèces présentent, à des degrés divers, cette ramification des colonies et le déplacement lent dans la gélatine visqueuse, près de son point de liquéfaction, donnés ici comme spéciaux. On trouve tous les intermédiaires entre des colonies à expansions radiaires (fig. 204), et celles qui émettent de ces prolongements, longs, sinueux, s'étendant au loin dans la gelée, pouvant même se séparer, à un moment donné, de la colonie centrale, lorsque la consistance du milieu est peu forte et s'y prête.

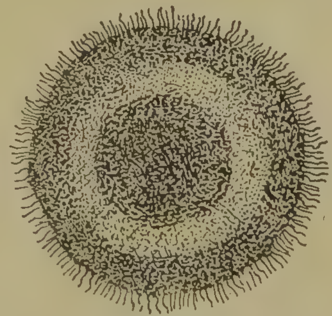


Fig. 204. — Colonie de *Bacillus mesentericus vulgaris*, sur plaques de gélatine.

Nous croyons que pour subdiviser un genre aussi homogène que le genre *Bacillus*, il est prudent d'attendre que l'on ait décrit un plus grand nombre d'espèces et fixé d'une manière plus précise la valeur des différents caractères, sous peine d'être exposé

(1) Duclaux, le Lait (Étude chimique et microbiologique. Paris, 1887, p. 218 et suiv.), et Chimie biologique.

(2) Hauser, Ueber Faülnissbacterien. Leipzig, 1885.

à voir survenir des intermédiaires, reliant intimement des espèces que l'on a complètement séparées dans la classification. Il est de plus tout à fait nécessaire, pour établir des groupes de cette valeur, de n'employer que des caractères bien tranchés, n'offrant pas ces passages insensibles d'un type à l'autre, comme ceux que nous venons de constater.

Pour la *simple commodité de l'exposition et de l'étude*, nous grouperons les espèces du genre *Bacillus* que nous allons décrire en trois séries :

1° Espèces pathogènes ;

2° Espèces chromogènes ;

3° Espèces à actions de ferments, à actions diverses ou indifférentes.

ESPÈCES PATHOGÈNES

BACILLUS ANTHRACIS Davaine.

(*Bactéridie charbonneuse, Bacille du charbon.*)

Atlas de microbiologie, pl. IV et V.

C'est l'agent de l'affection éminemment contagieuse connue chez l'homme sous le nom de *charbon* ou *pustule maligne*, chez le cheval sous celui de *fièvre charbonneuse*, chez le mouton sous celui de *sang de rate* et chez la vache sous celui de *maladie du sang*. Ces différences de désignation d'une seule et même maladie chez plusieurs espèces animales proviennent de la variabilité des symptômes, due à la diversité des modes de contagion, et aussi à la réceptivité propre à chaque espèce ; il n'a été possible d'identifier ces affections que lorsqu'on a démontré qu'elles étaient dues à une cause unique.

Rayer et Davaine (1) ont signalé, en 1850, la présence de bâtonnets, dépourvus de mouvements spontanés, dans le sang de moutons morts du sang de rate. Pollender (2), en 1855, décrit dans le sang charbonneux des corps semblables, qu'il rapproche des *Vibrions* de putréfaction. Brauell (3), en 1857, retrouve ces mêmes *Vibrions*, mais les confond avec les Bactéries de putréfaction, qui se développent si rapidement dans le sang exposé à l'air ; pour lui, ils ne sont pas caractéristiques du charbon, mais apparaissent plus rapidement dans le sang des animaux charbonneux, où on ne peut les rencontrer même avant la mort. Mais l'étiologie de cette affection n'a été mise en évidence que par les recherches ultérieures de Davaine (4). Ce savant annonçait, en 1863 (5), à l'Académie des sciences, la constance dans le sang charbonneux de ces mêmes organismes, qu'il y avait aperçus treize ans auparavant, et montrait, en précisant leurs caractères, qu'ils se rapprochaient des Bactéries dont Pasteur étudiait alors les actions physiologiques si curieuses. Dans une série de mémoires, il exposait les résultats de ses inoculations expérimentales et en concluait au rôle capital que la Bactérie jouait dans l'infection. C'était déjà pour lui une véritable espèce, distincte des

(1) Rayer et Davaine, Inoculation du sang de rate (*Mém. de la Soc. de biol.*, 1850, p. 141).

(2) Pollender, Mikroscopische und microchemische Untersuchung der Milzbrandblutes, 1855.

(3) Brauell, Versuche und Untersuchungen betreffend den Milzbrand der Menschen und Thiere (*Virchow's Arch.*, XI, 1857, p. 131).

(4) Davaine, Recherches sur les infusoires du sang dans la maladie connue sous le nom de sang de rate (*C. R. de l'Acad. des sc.*, t. LVII, 1863, p. 320, 351 et 386).

(5) Davaine, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1864 et 1865.

autres connues et surtout de celles si communes dans les putréfactions, qui, lorsqu'elles étaient pathogènes, déterminaient des accidents tout autres, de nature *septicémique*. Se basant même sur l'immobilité absolue des articles à toutes les périodes de l'existence, il avait cru devoir créer le nouveau genre *Bacteridium*, d'où le nom de *Bactéridie charbonneuse* encore souvent employé aujourd'hui. La morphologie de cette espèce fut établie dans ses moindres détails par Koch (1) en 1875, dans son étude magistrale qui a, entre autres détails, fait connaître les spores et leurs remarquables propriétés. Pasteur et ses élèves, Joubert, Roux et Chamberland, sont arrivés à obtenir des cultures pures de cette Bactérie et à reproduire à leur aide une affection en tout semblable à la maladie charbonneuse, apportant ainsi une preuve expérimentale des plus démonstratives. En même temps, ils élucidaient les points divers de l'étiologie et de la pathogénie du charbon, mettaient en lumière les moyens prophylactiques à opposer à son développement, et découvraient la méthode si féconde de vaccination à l'aide des cultures à virulence atténuée (2).

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Le *Bacillus anthracis*, examiné dans le sang d'un animal mort du charbon, s'y trouve en bâtonnets d'une longueur moyenne de 5 μ à 6 μ sur une largeur de 1 μ à 15 μ. On les trouve isolés ou réunis à deux ou plusieurs, en courtes chaînes; parfois, probablement lorsque la division est rapide, les articles ne se distinguent pas facilement à première vue et semblent constituer un filament homogène atteignant jusqu'à 20 μ de long. A l'aide de bons objectifs et en faisant intervenir les réactifs colorants, on aperçoit les minces cloisons qui séparent les cellules dont la longueur est au plus le double de la largeur. Souvent, au contraire, les bâtonnets composant une même chaîne paraissent écartés les uns des autres; il existe entre deux éléments qui se suivent un espace clair, dont la forme irrégulière est due à ce que les extrémités des articles ne sont pas coupées net, en carré, mais sont limitées par une ligne légèrement sinueuse (fig. 205). C'est un caractère sur lequel Koch insiste beaucoup et qu'il donne comme tout spécial au *Bacillus anthracis*. Il permet de différencier cette espèce d'autres que l'on peut rencontrer dans les mêmes conditions. On ne l'observe que sur les préparations fixées et colorées comme il a été indiqué, ce qui peut faire penser qu'il est dû à l'action des réactifs employés; il n'en perd du reste aucunement sa valeur. Ce caractère ne se voit pas d'ordinaire sur les préparations faites avec des cultures.

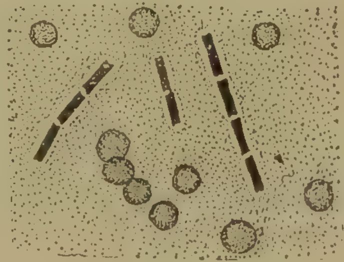


Fig. 205. — Sang de cobaye mort du charbon (Obj. apochr. 1,30. — Oc. 4, Zeiss).

Fréquemment autour des bâtonnets se distingue une mince zone claire, hyaline, qui paraît due à la couche périphérique gélifiée de la membrane; dans les vieilles cultures, bien des éléments

(1) Koch, Die Aetiologie der Milzbrand-Krankheit begründet auf die Entwickelungsgeschichte der Bacillus Anthracis (*Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, II, 1876, p. 277).

(2) Consulter pour plus de détails : Straus, Le Charbon des animaux et de l'homme. Paris, 1887.

ont cette couche si développée qu'elle forme une véritable capsule (1).

Lorsque ces Bactéries sont cultivées dans certains milieux, surtout liquides comme le bouillon, l'humeur aqueuse ou le sérum sanguin, elles croissent en très longs filaments de même largeur qu'elles, onduleux, enchevêtrés, formant parfois de véritables tresses, qui, traités par les réactifs, montrent d'ordinaire une segmentation en articles plus courts que les bâtonnets du sang. Ces filaments, comme les bâtonnets du reste, ne montrent qu'un protoplasma homogène, tout à fait transparent, dépourvu de granulations.

Ces formes sont immobiles et paraissent l'être toujours, bien que Toussaint (2) ait décrit de légers mouvements chez les très jeunes bâtonnets.



Fig. 206. — Formation des spores chez le *Bacillus anthracis*. 900/1.

Les longs filaments des cultures produisent très vite des spores dans leur intérieur. Bien qu'on décrive généralement les spores comme formant parfois des chapelets dans ces filaments, il ne semble pas qu'il puisse se produire plus d'une spore par article. La segmentation des filaments doit se faire avant la sporulation. Mais l'extrême minceur des cloisons et leur disparition, qui commence dès que la spore est formée, en rendent l'observation fort difficile. On aperçoit au début, en différentes parties de la longueur d'un filament, des séries de points sombres, qui sont l'indice d'une condensation du protoplasma. Chacune de ces taches grandit et forme une spore ovale, très réfringente, située au milieu du filament dont elle ne remplit pas la largeur (fig. 206). Peu de temps après la formation des spores, les filaments qui les ont produites pâlissent, leurs contours perdent leur netteté; la membrane se gélifie et se dissout dans le liquide ambiant. La spore est mise en liberté. Pour germer, elle doit être transportée dans un milieu nouveau. Elle s'y développe rapidement; le développement devient visible après trois ou quatre heures. D'après Koch, il se forme autour de la spore, aux dépens de la

(1) Kern, Ueber die Kapsel des Anthraxbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 166).

(2) Toussaint, Recherches expérimentales sur la maladie charbonneuse (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1877).

membrane, une zone claire, hyaline, qui l'entoure comme d'une auréole. La masse centrale s'allonge suivant son plus grand diamètre, perd son éclat et se transforme directement en une cellule végétative. Tous ces différents processus, croissance des filaments, formation des spores, germination, s'observent facilement à l'aide des cultures en cellules sur porte-objet, dont le mode de préparation a été indiqué page 222.

Les propriétés physiologiques des spores sont aussi intéressantes que les particularités de leur développement. Celle qui domine toutes les autres et joue le rôle le plus important est la résistance considérable de l'élément aux causes de destruction qui portent rapidement atteinte à la vitalité de la cellule végétative. Tandis que les bâtonnets ordinaires sont tués vers 60°, les spores complètement formées résistent, dans un milieu humide, à 95° pendant dix minutes et peuvent être chauffées à 80° pendant longtemps sans périr (1). Koch a pu même observer le développement de spores qu'il avait portées peu de temps à 123° dans l'air sec. Elles supportent de même l'action de l'oxygène comprimé et de très fortes pressions. Enfin la dessiccation, la privation d'aliments ou d'air, l'action de beaucoup d'antiseptiques, n'ont aucune prise sur ces organes reproducteurs.

Sous des influences encore mal déterminées, des cultures de *Bacillus anthracis* peuvent perdre la propriété de former des spores tout en conservant leur virulence. Il se produit ainsi une variété *asporogène* pouvant infiniment se perpétuer telle quelle, uniquement par multiplication végétative. Chamberland et Roux (2) l'ont obtenue en faisant agir sur les cultures des doses faibles d'antiseptiques, de l'acide phénique et du bichromate de potasse surtout. Lehmann (3) a observé le même fait dans de vieilles cultures sur gélatine. Surmont et Arnould (4) donnent comme procédé de choix, pour obtenir du charbon asporogène, le procédé de Roux à l'acide phénique; si, à son aide, l'on n'obtient pas de suite le résultat cherché, ils recommandent de soumettre au préalable le charbon à des cultures en série à 42°, en réensemençant de cinq en cinq jours.

Dans les bouillons de culture, surtout dans ceux qui sont ensemencés depuis longtemps, on remarque souvent des filaments modifiés dans leur forme et leurs dimensions, présentant sur leur parcours des renflements irréguliers, ovoïdes ou en forme de bouteilles, des séries de grains plus ou moins arrondis, de diamètre très inconstant; ce sont des *formes d'involution*, indice d'un certain épuisement du milieu. Plusieurs observateurs ont décrit, à tort assurément, de ces formes arrondies comme des coccus, faisant partie normalement du cycle évolutif de l'espèce.

Coloration. — Les bâtonnets pris dans le sang ou les éléments des

(1) Roux, De l'action de la chaleur et de l'air sur les spores de la Bactéridie du charbon (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, p. 392).

(2) Chamberland et Roux, Sur l'atténuation de la virulence de la Bactéridie charbonneuse sous l'influence des antiseptiques (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCVII, 1883 p. 1090).

(3) Lehmann, Ueber die Sporenbildung bei Milzbrand (*Münch. med. Wochenschr.*, 1887, n° 26).

(4) Surmont et Arnould, Recherches sur la production du Bacille du charbon asporogène (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 816).

cultures se colorent très bien aux couleurs d'aniline par les procédés ordinaires. La solution de Ziehl réussit en particulier très bien. Ils *restent colorés* par la méthode de Gram. On obtient de belles colorations des spores et du restant des articles filamenteux qui les produisent par le procédé de double coloration des spores décrit page 308.

Cultures. — Les cultures du *Bacille du charbon* réussissent facilement sur tous les milieux. Il est facile d'en obtenir avec du sang d'animal charbonneux, qui, lorsqu'il est pris avec les précautions nécessaires, peut ne fournir que cette seule espèce. Dans les cas où plusieurs Bactéries s'y trouvent mélangées, l'emploi des cultures sur plaques permet aisément d'isoler le *Bacillus anthracis*, qui donne des cultures d'aspect si spécial et si caractéristique qu'il n'est guère possible de craindre une méprise. Pasteur a employé, au début de ses recherches, les milieux dont il se servait à cette époque pour ses études sur les fermentations, surtout sa solution minérale et l'urine stérilisée et légèrement alcalinisée. L'espèce y végète, mais à coup sûr bien moins abondamment que dans les bouillons de viande, qui sont aujourd'hui le milieu liquide à choisir. Le développement ne se fait exclusivement qu'en présence d'oxygène ; le *Bacille du charbon* est un aérobie vrai. La privation d'air tue rapidement les cellules végétatives, mais respecte les spores qui y résistent longtemps. Un certain degré de chaleur est nécessaire pour la croissance : la division ne pourrait plus s'opérer au-dessous de 12° ; les spores ne se forment plus au-dessous de 15°. Il paraît y avoir un optimum de végétation situé vers 35-37°. A 43°, la formation de spores s'arrête ; la multiplication végétative continue lentement pour cesser bientôt tout à fait lorsque la température dépasse 45°. C'est un point intéressant à noter, dont nous trouverons bientôt une importante application, qu'il ne peut jamais se former de spores dans des cultures maintenues avec soin et sans interruption à 43 degrés.

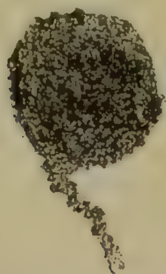


Fig. 207. — Colonie de *Bacillus anthracis* développée sur plaques de gélatine après 36 heures. 60/1 (d'après une photographie).



Fig. 208. — Colonie de *Bacillus anthracis* développée sur plaques de gélatine après trois jours. 60/1 (d'après une photographie).

Cultures sur plaques de gélatine. — On obtient aisément de belles colonies sur plaques, en maintenant les cultures à une température d'au moins 15°. Dans ces conditions, on aperçoit déjà après vingt-quatre heures, à l'œil nu, de petits points blancs dans la gélatine. Examinés à un grossissement de 60 diamètres environ, ces points apparaissent comme autant de petites colonies granuleuses, arrondies, teintes d'une

couleur jaune sale, à bords légèrement sinueux. Ces colonies grandissent de plus en plus ; l'aspect de leur substance change. Au bout de trente-six heures, il se forme dans leur masse des filaments très reconnaissables, qui la font ressembler à un petit amas de fil irrégulièrement pelotonné ; les sinuosités des filaments apparaissent nettement à la périphérie ; certains d'entre eux peuvent même sortir de la masse et onduler dans la gélatine ambiante (fig. 207). Les colonies de trois ou quatre jours ont un aspect tout autre (fig. 208). Elles sont entièrement formées par un rassemblement de filaments réunis en mèches ondulées d'aspect élégant, rappelant les cheveux bouclés, ou de flocons cotonneux blanchâtres, réguliers, plongés dans la gelée transparente. Quand les colonies ont atteint 3 ou 4 millimètres, la gélatine se liquéfie autour d'elles; elles se désagrègent, les flocons dissociés flottent dans un liquide clair.

Cultures dans le bouillon. — Dans du bouillon placé à l'étuve à 30-35°, on observe en un jour des flocons blancs, assez denses, se former à la surface et surtout contre les parois du vase. Ces flocons peuvent rester adhérents au verre; le plus souvent, ils se détachent et tombent dans le liquide. Ils y nagent pendant assez longtemps et apparaissent alors comme de légers nuages dans le bouillon resté limpide ; par agitation, ils n'en troublent pas la transparence. A un moment donné, ils se précipitent et forment, au fond du vase de culture, un sédiment blanchâtre, moins léger, qui se répand dans le liquide dès qu'on remue le ballon, et le trouble uniformément. On se rend facilement compte de ses particularités, en examinant la culture au microscope, à chacune de ses différentes phases. Les filaments du début sont longs, flexueux, enchevêtrés ; les spores commencent à se former dans leur intérieur. Dès qu'ils tombent au fond du vase, la sporulation est terminée ; la membrane commence à se résorber pour mettre les spores en liberté. Enfin le dépôt des cultures âgées est uniquement formé de spores libres, qui se répandent dans tout le liquide à la moindre agitation.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* dans un tube de gélatine, le développement est bien aussi caractéristique. Tout au début, de vingt-quatre à trente-six heures, après l'inoculation d'habitude, il se forme dans le canal de la piqûre une mince bande blanchâtre, d'où partent, en direction perpendiculaire, de nombreux petits filaments droits, développés surtout dans la partie supérieure (fig. 209). La culture a un aspect duveteux ; G. Roux (1) la compare très heureusement à une mince radicule de plante en germination, munie de ses poils radiculaires. Cet aspect caractéristique s'observe surtout lorsqu'on ensemence du sang charbonneux. Ces filaments grandissent peu à peu et envahissent au bout de quelques jours toute la gélatine qui entoure la piqûre. La culture prend l'aspect représenté figure 210 ; elle ressemble à ces flocons blanc brillant qui surmontent le fruit de beaucoup de chardons. A la surface de la gelée se produit une mince colonie blanchâtre qui fait suite à celle qui s'est développée dans le canal. Après une dizaine de jours, la gélatine se liquéfie progressivement (fig. 211). Lorsque la liquéfaction a envahi une grande partie du tube, on voit nager dans le liquide complètement clair un gros flocon blanc, produit par la colonie duveteuse légèrement tassée sur elle-même. Plus tard, la colonie se

(1) G. Roux, Traité de pathologie générale de Bouchard, t. II, p. 604.

désagrège, tombe et vient former un dépôt blanc sale au fond du tube.



Fig. 209. — Très jeune culture sur gélatine de *Bacillus anthracis*.



Fig. 210. — Culture de *Bacillus anthracis* plus âgée.



Fig. 211. — Culture âgée de *Bacillus anthracis* sur gélatine. La gélatine est en partie liquéfiée.

Cultures sur gélose. — Sur gélose, il se produit le long de la strie une colonie blanchâtre, assez épaisse, d'une consistance friable, à bords souvent dentelés.

Cultures sur sérum. — En strie, la culture, blanchâtre au début, liquéfie assez rapidement le milieu. Dans le sérum liquide, la culture prend, dès le second jour, l'aspect de flocons enchevêtrés; vers le douzième jour, le sérum est devenu plus consistant, comme gélatineux, la fluidité reparaît ensuite.

Cultures sur pomme de terre. — Sur pomme de terre, la végétation est abondante. Elle donne en quelques jours une couche épaisse, d'un blanc sale, opaque, à bords légèrement transparents. La culture dégage une odeur aigrelette.

Cultures dans le lait. — Ensemencé dans du lait stérilisé, le *Bacille du charbon* se développe très vite. Dans un ballon, au bout de quelques jours, le lait devient plus limpide et se colore légèrement en jaune. La matière grasse se rassemble à la surface et le petit-lait à la partie inférieure. A la longue, une partie de la matière grasse disparaît. Ces cultures prennent une odeur de fromage pourri et deviennent brunes après plusieurs mois. Dans un tube, au contraire, en deux ou trois jours, le lait est transformé en une masse solide, grumeleuse, qui occupe le fond du tube et est surmontée d'un liquide clair, incolore, fortement alcalin. D'après Roger (1), la modification est due à la sécrétion d'un ferment coagulant la caséine ; dans le premier cas, la Bactérie pouvant se développer dans le milieu largement aéré, consomme la caséine avant que la modification se soit produite.

(1) Roger, Action de la Bactéridie charbonneuse sur le lait (*Soc. de Biol.*, 18 mars 1893).

Propriétés biologiques.

Virulence. — Les cultures, faites comme nous venons de l'indiquer à une température de 15° au moins, possèdent une virulence identique à celle du sang pris sur un animal charbonneux. Les effets déterminés par l'inoculation de sang et de produits de culture sont identiques. La Bactérie du sang est tout aussi avide d'air que celle des cultures; seulement, elle enlève l'oxygène à la combinaison faible qu'il forme avec l'hémoglobine. C'est peut-être à cet état asphyxique qu'est due la teinte noirâtre du sang, observée aussi dans le charbon de l'homme, qui a fait donner le nom à la maladie. Toutefois, il faut remarquer que les bâtonnets du sang ne forment jamais de spores et se reproduisent uniquement par division; les spores ne semblent pouvoir se former qu'à l'air, en présence d'oxygène libre.

Produits formés dans les cultures. — La matière albuminoïde des bouillons, celle du sérum, la caséine du lait, sont transformées en ammoniaque (1), qui donne aux cultures une réaction fortement alcaline; la transformation s'arrête, probablement avec la végétation, lorsque la proportion d'ammoniaque contenue dans le milieu a atteint un certain chiffre. D'après Iwanow (2), il se formerait, en outre, de l'acide acétique, de l'acide formique et de l'acide caproïque. Maumus (3) a observé, dans les cultures sur pomme de terre, la transformation de l'amidon en glucose qui est alors probablement utilisé comme aliment par la Bactérie.

Dans les cultures sur milieux peptonisés, il se forme des traces d'hydrogène sulfuré, mais pas d'indol.

Les cultures virulentes renferment des produits toxiques déjà signalés par Toussaint (4) en 1878.

Hankin (5) a isolé de telles cultures une matière albuminoïde (albumose) toxique, à laquelle, d'après lui, la *Bactérie du charbon* devrait sa virulence. Il l'obtient en précipitant par l'alcool, lavant le précipité à l'alcool, séchant. Cette substance est excessivement toxique; à des doses très minimes, elle vaccine les animaux d'expérience contre les produits les plus virulents.

Plus tard, Hankin et Wesbrook (6) annoncent avoir retiré des cultures de Bacille du charbon une diastase particulière qui décompose les matières protéiques avec formation d'albumoses qui leur ont paru inactives. Le microbe peut, en outre, produire directement une autre albumose, qui, sans effet toxique à dose ordinaire, chez les animaux sensibles au charbon, aurait au contraire une action toxique énergique sur les animaux qui jouissent d'une immunité relative à l'égard du

(1) Perdrix, Sur la transformation des matières azotées dans les cultures de Bactéridie charbonneuse (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888, p. 354).

(2) Iwanow, Sur la production des acides volatils dans les cultures du Bacille charbonneux (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, II, 1892, p. 131).

(3) Maumus, Sur la transformation de l'amidon végétal en sucre par le Bacille du charbon (*Soc. de Biol.*, 28 janvier 1893).

(4) Toussaint, *C. R. de l'Acad. des sc.*, avril 1878.

(5) Hankin, Immunity produced by an Albumose isolated from Anthrax cultures (*British med. Journ.*, 1889, p. 810).

(6) Hankin et Wesbrook, Sur les albumoses et les toxalbumines sécrétées par le Bacille charbonneux (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 633).

charbon, fait contraire à ce que l'on observe habituellement. En outre, cette albumose, à doses très petites, conférerait aux souris une très grande résistance, voire même parfois l'immunité complète, envers l'infection charbonneuse.

Martin (1) a rencontré dans des cultures âgées de dix à quinze jours, faites dans du sérum alcalinisé : 1° deux albumoses, proto-albumose et deutéro-albumose, et une trace de peptones; tous ces produits réagissent comme des peptones ; 2° un alcaloïde ; 3° de petites quantités de leucine et de tyrosine.

Les albumoses mélangées ne lui ont semblé toxiques qu'à des doses assez fortes ; en les traitant par de l'alcool acidulé, on en obtient des traces d'un produit très toxique.

L'alcaloïde, soluble dans l'alcool, l'alcool amylique et dans l'eau, donne avec les acides des sels cristallisables. Il est plus toxique que les albumoses.

Brieger et Fraenkel (2), en opérant comme Hankin, ont obtenu une matière albuminoïde toxique, qui, à l'état sec, est une poudre grisâtre, très légèrement soluble dans l'eau.

Enfin, en dernier lieu, Marmier (3) a extrait, de cultures dans le sérum liquide et les bouillons, une substance toxique qu'il obtient en traitant le liquide filtré par le sulfate d'ammoniaque à saturation ; il se produit un précipité qui est recueilli sur filtre et lavé à l'eau saturée de sulfate d'ammoniaque. Par dessiccation, il reste une substance amorphe, pulvérulente, brunâtre, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme. Elle ne présente aucune des réactions des matières albuminoïdes, des peptones ou des alcaloïdes; elle est sans action sur l'empois d'amidon, sur les solutions de sucre de canne ou de glycogène. Inoculée aux animaux sensibles au charbon, elle amène à certaines doses la mort par cachexie ; les animaux réfractaires au charbon paraissent insensibles aux inoculations. Elle est atténuée, mais non complètement détruite, par chauffage à 110°. En traitant des cultures sur gélose par de l'eau alcoolisée, on en retrouve dans le liquide; ce qui peut faire penser que cette toxine est contenue dans le corps des Bacilles et ne diffuse à l'extérieur que dans certaines conditions de milieu.

Résistance aux conditions de milieu. — Ici, comme on le conçoit facilement, les résultats varient suivant que l'action s'exerce sur les simples formes végétatives, bâtonnets ou filaments, ou sur des spores. La spore résiste infiniment plus à toutes les conditions défavorables que la simple forme végétative (4).

La *chaleur* tue rapidement les bâtonnets sans spores, ceux de cultures très jeunes ou ceux du sang frais, par exemple ; il suffit de quelques

(1) Martin, The chemical Products of the growth of Bacillus anthracis (*Proceed. of royal Society of London*, 22 mai 1890).

(2) Brieger et Fraenkel, Untersuchungen über Bacteriengifte (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1889, nos 11 et 12).

(3) Marmier, Sur la toxine charbonneuse (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 533).

(4) Roux, De l'action de la chaleur et de l'air sur les spores de la Bactéridie du charbon (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887). — Arloing, Influence de la lumière blanche et de ses rayons constituants sur le développement et les propriétés du *Bacillus anthracis* (*Arch. de phys.*, VII, 1886, p. 209). — Momont, Action de la dessiccation, de l'air et de la lumière sur la Bactéridie charbonneuse filamenteuse (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 21).

minutes à 58°. Les spores bien mûres résistent une dizaine de minutes à une température humide de 95°; 100 degrés les tuent en trois ou quatre minutes. A sec, il faut faire agir 120° pendant plusieurs heures pour les tuer sûrement.

La *lumière solaire* détruit en huit à seize heures la virulence du sang charbonneux au contact de l'air; à l'abri de l'air, la virulence persiste beaucoup plus longtemps.

La *dessiccation* est peu active sur les bâtonnets; elle est sans action sur les spores.

Dans le sol, l'eau, dans des débris en putréfaction, les cellules végétatives ne meurent qu'après plusieurs mois; les spores se conservent très longtemps.

Les divers *antiseptiques* tuent facilement les cellules végétatives, ils ont bien moins d'action sur les spores. Ces dernières gardent leur virulence après avoir supporté l'action de l'alcool absolu pendant cent vingt-quatre jours, de l'acide phénique à 1 p. 1000 pendant soixante et un jours, du sublimé à 1 p. 1000 pendant une heure; le sublimé à 1 p. 200 les tue en quelques minutes.

Inoculation expérimentale.

L'infection de l'organisme peut se faire par des voies différentes. Le mode de pénétration le plus employé est l'inoculation sous-cutanée. Il suffit de faire une petite boutonnière à la peau d'un animal susceptible de contracter le charbon et d'y déposer quelques Bacilles ou quelques spores, ou plus simplement de la piquer avec une aiguille ou un instrument aigu trempé préalablement dans un produit virulent, pour voir l'affection apparaître et évoluer avec ses symptômes typiques. Ce mode d'infection est rare dans la nature. C'est surtout par la surface intestinale que l'agent virulent pénètre dans le sang chez nos animaux domestiques, où la maladie a été considérée pendant longtemps comme spontanée; soit que la muqueuse présente une de ces éraillures si fréquentes, qui permettent l'introduction directe, soit que les Bacilles puissent traverser activement les couches superficielles et parvenir dans le système sanguin.

Les différentes espèces animales sur lesquelles on est amené à expérimenter présentent des degrés divers de réceptivité pour la maladie charbonneuse. Parmi les plus sensibles, nous rencontrons ceux qui sont décimés par l'affection quand elle sévit épizootiquement, les moutons, les chèvres, les chevaux, les vaches. Avec eux, les lapins, les cobayes, les souris, sont des plus faciles à infecter. Les rats ordinaires présentent plus de résistance, ainsi que les jeunes veaux, d'après les expériences de Chauveau (1). Les rats blancs, qui ont été donnés par bien des observateurs comme réfractaires, ne présentent pas, d'après Metschnikoff (2), d'immunité complète; ils offrent seulement une résistance plus ou moins considérable qui peut être vaincue facilement. Il se produit chez eux, avec de fortes doses de matière virulente, une véritable affection charbonneuse qui se termine dans beaucoup de cas

(1) Chauveau, Sur la résistance des animaux de l'espèce bovine au sang de rate (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCI, 1880, p. 1526).

(2) Metschnikoff, Étude sur l'immunité, III : Le charbon des rats blancs (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, p. 193).

par guérison complète. Charrin et Roger ont démontré que le surmenage diminuait leur résistance au point d'obtenir l'infection onze fois sur treize. Les carnassiers sont souvent réfractaires ; on a cependant quelquefois observé l'infection expérimentale du chien et du chat, surtout si l'on diminue, par un moyen quelconque, leur résistance vitale (1). Les porcs sont en général difficilement infectés. Les jeunes porcs succombent plus facilement que les adultes. Les porcs des races américaines et anglaises prennent très facilement le charbon expérimental; les porcs hongrois sont bien plus résistants. Mais l'immunité la plus curieuse est sans contredit celle qui protège toute une race de moutons d'Algérie, les moutons *barbarins*; ce fait a été étudié par Chauveau (2). Les individus de cette race, même nés en France de parents qui y ont été élevés depuis plusieurs générations, résistent à des inoculations charbonneuses réitérées, qui tuent sans exception les moutons indigènes. Cette immunité cependant n'est pas absolue, elle peut être vaincue par l'introduction dans le sang de doses massives d'agent infectieux. D'autres fois, l'immunité n'est que relative ; elle cède lorsqu'on fait disparaître certaines conditions mauvaises dans l'organisme réfractaire ou qu'on change ses conditions de vie. Les poules ont été longtemps considérées comme réfractaires; Pasteur (3) est parvenu à les faire périr du charbon en abaissant artificiellement leur température, ce qui s'obtient facilement en immergeant dans l'eau froide une partie du corps de ces oiseaux, les pattes par exemple; d'après Thiltges (4), cette immunité serait due principalement aux propriétés bactéricides de leur sérum sanguin et, secondairement, à l'activité phagocytaire des leucocytes. En élevant la température du corps de grenouilles maintenues dans de l'eau à 35°, Gibier (5) leur a communiqué un charbon mortel, alors qu'elles passaient pour ne pas pouvoir le contracter. Il faut ici toutefois, comme dans les expériences de Fischel (6), faire la part du changement des conditions de milieu, en particulier de la température, qui peut seule causer la mort de l'animal en un très court délai (Voy. p. 268). Les inoculations faites sur diverses espèces d'Invertébrés, en particulier les escargots, n'ont jamais donné de résultats. L'âge ou l'état de santé d'un individu peut du reste influer considérablement sur l'effet de l'infection. Un animal malade sera tué avec des doses infimes, qui ne détermineront que des troubles passagers chez un congénère bien portant. De même un animal jeune succombera bien avant un adulte, et d'autant plus vite qu'il sera moins âgé ; des cultures peu virulentes ne détermineront chez des lapins ou

(1) Phisalix, Causes de la diminution de résistance des Carnassiers au charbon (*Soc. de Biol.*, 10 avril 1897).

(2) Chauveau, *C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXIX, 1879, p. 498 ; — XC, 1880, p. 1526, et XCI, p. 23 et 680 ; — XCII, 1881, p. 510.

(3) Pasteur, Joubert et Chamberland, Sur le charbon des poules (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1878, p. 253 et 737, et 1879, p. 1222).

(4) Thiltges, Beitrag zum Studium der Immunität des Huhnes und der Taube gegen den Bacillus des Milzbrandes (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVIII, 1898, p. 189).

(5) Gibier, De l'aptitude communiquée aux animaux à sang froid à contracter le charbon par élévation de leur température (*C. R. de l'Acad. des sc.*, t. XCIV, 1882, p. 1605).

(6) Fischel, Untersuch. über Milzbrandinfektion bei Fröschen und Kröten (*Fortschr. der Med.*, IX, 1891, n° 2).

des cobayes adultes qu'une maladie guérissable, tandis qu'elles en feront irrévocablement périr d'autres beaucoup plus jeunes ou âgés de quelques jours seulement.

Chez le cobaye et le lapin, l'injection sous-cutanée de quelques gouttes de sang charbonneux frais ou d'une culture récente de *Bacillus anthracis*, ou plus simplement la piqûre de la peau avec une lancette ou une aiguille chargée de produits charbonneux, détermine au point d'inoculation, au bout de dix à quinze heures, un œdème assez prononcé ; la température s'élève de 1 ou 2 degrés. L'animal garde son appétit et ses apparences de santé jusqu'à quelques heures avant sa mort qui survient de trente-six à quarante heures après l'inoculation chez le cobaye, de quarante-huit à soixante chez les lapins. Il s'assoupit tout d'un coup, est pris de dyspnée, tombe dans le coma et meurt après quelques légères convulsions et une température très basse, 34-32°, même 30 degrés.

A l'autopsie, la partie du corps où a été faite la piqûre est œdématiée ; le liquide rougeâtre que l'on y recueille fourmille de bâtonnets plus longs que ceux qui se trouvent dans le sang. Les ganglions lymphatiques de cette région sont gonflés ; ils contiennent une quantité considérable de Bactéries. La rate est tuméfiée, diffluente ; le foie et le poumon sont gorgés de sang noir. Le sang pris dans toutes ces parties montre de nombreux bâtonnets. Ces Bactéries remplissent souvent les réseaux capillaires et, s'accolant aux parois des vaisseaux, peuvent en obturer complètement l'orifice et amener des ruptures vasculaires. C'est de là que viennent celles que l'on rencontre dans l'urine ou le lait (1) d'animaux de plus grande taille. C'est aussi de cette manière qu'elles peuvent, chez des femelles pleines atteintes de charbon, pénétrer dans le placenta et contaminer le fœtus dans le corps même de la mère (2). Il est vrai que l'on peut tout aussi bien admettre le passage des Bactéries par les interstices cellulaires.

Vaccination. Immunité et sérothérapie.

Dans certaines conditions, la virulence des cultures de *Bacille du charbon* ne se maintient pas à son degré maximum, mais décroît peu à peu, à mesure qu'agissent les causes qui peuvent l'amoindrir. C'est à Pasteur que revient l'honneur d'avoir pu déterminer le premier par quel moyen on pouvait arriver à obtenir des séries de virus à action de moins en moins nuisible, variant en plus ou en moins suivant le désir de l'expérimentateur. Il avait démontré que l'atténuation des cultures de *Micrococcus du choléra des poules* était due, en partie au moins sinon en totalité, à l'action prolongée de l'oxygène ; le même procédé était à appliquer au *Bacillus anthracis*. Mais pour cette dernière espèce il y avait à tenir compte de la présence constante, dans les cultures ordinaires, des spores, si résistantes, qui s'opposent à toute tentative d'atténuation. Pasteur a résolu très habilement la difficulté en empêchant la formation des spores dans les cultures qu'il voulait atténuer. Il y est arrivé en maintenant ces

(1) Chambrelent et Moussoux, Expériences sur le passage des bact. charbonn. dans le lait des animaux atteints de charbon (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCVII, 1883, p. 1142).

(2) Straus, Le charbon des animaux et de l'homme, p. 133 et s. — Koubassoff, Passage des microbes pathogènes de la mère au fœtus (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CI, 1885, p. 101). — Marchand, Ueber einen merkwürdigen Fall von Milzbrand bei einer Schwangeren mit tödlicher Infection des Kindes (*Virchow's Arch.*, CIV, 1887, p. 86).

bouillons à une température de 43°, à laquelle, nous l'avons vu, les filaments ne peuvent plus produire de spores. A cette température, la multiplication végétative se fait encore bien ; elle ne cesse qu'au-dessus de 45°, mais les cultures ne possèdent plus la résistance qu'elles devaient uniquement à leurs spores. Maintenue dans ces conditions au contact de l'air pendant un mois, une culture est morte ; quelques jours avant, elle contenait des cellules vivantes capables de fertiliser de nouveaux milieux, mais était dépourvue de toute virulence, que toute culture a perdue après huit jours d'un semblable traitement. Entre le premier et le huitième jour, fait important, la culture passe par des degrés divers d'atténuation ; elle devient d'autant moins virulente qu'on s'éloigne du point de départ. Comme ces virus atténués confèrent, au moins partiellement, l'immunité contre la maladie, une méthode pratique de *vaccination charbonneuse* était imaginée ; elle a donné jusqu'ici, comme on sait, des résultats excellents (1).

Les éléments de cette Bactérie atténuée ne diffèrent que bien peu de ceux des cultures très virulentes ; quelques minimes détails de culture, et c'est tout, si bien que pour un observateur non prévenu il ne serait pas possible de faire de distinction. Ces détails, du reste, disparaissent complètement dès qu'on provoque la formation de spores dans les bouillons atténués et qu'on en obtient des cultures nouvelles. Mais alors l'action physiologique ne revient pas à son point de départ ; la spore fixe, pour ainsi dire, la virulence que possédait la culture où elle s'est formée et la reproduit identique dans la nouvelle culture.

Il est cependant possible de ramener une Bactérie ainsi atténuée à sa virulence première en la faisant passer successivement dans le corps d'animaux de moins en moins impressionnables. Une Bactérie donnée, inoffensive pour le cobaye adulte, pourra tuer le cobaye d'un jour ; sa virulence se renforce alors un peu ; elle fera périr un cobaye de deux jours. Et ainsi de suite, petit à petit, après une période assez longue et des passages assez nombreux, elle fera mourir le cobaye de huit jours, puis celui d'un mois, puis un adulte de plus en plus fort, et enfin deviendra très virulente pour le mouton lui-même. Elle est revenue à sa force primitive, qu'elle gardera si l'on n'intervient pas pour l'atténuer.

La méthode employée par Pasteur n'est pas la seule qui conduise à l'atténuation de la virulence des cultures de *Bacillus anthracis*, et par suite à la préparation des vaccins. Avant que ce savant soit arrivé à obtenir les résultats que nous venons d'indiquer, Toussaint (2) avait annoncé la possibilité d'obtenir un vaccin efficace en chauffant à 55°, pendant dix minutes, du sang charbonneux défibriné, ou en ajoutant à ce même liquide 10 p. 100 d'acide phénique. Chauveau (3) a repris l'étude de ce procédé et l'a appliqué à l'atténuation des bouillons de culture. La diminution de la virulence, dans ce cas, est d'autant plus rapide que la température est plus élevée ; ainsi, tandis qu'une culture

(1) Pasteur, Chamberland et Roux, De l'atténuation des virus et de leur retour à la virulence (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCII, 1881, p. 427), et Le vaccin du charbon (*Ibid.*, p. 666). — Chamberland, Le charbon et la vaccination charbonneuse, d'après les récents travaux de M. Pasteur. Paris, 1883.

(2) Toussaint, De l'immunité pour le charbon acquise à la suite d'inoculations préventives (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCI, 1880, p. 135 et 303).

(3) Chauveau, *C. R. de l'Acad. des sc.*, XCIV, 1882, p. 1694, et XCVI, 1883, p. 553.

maintenue à 45° demande quelques jours pour s'atténuer suffisamment, le même résultat pourra être obtenu en quelques heures à 47°, et en quelques minutes de 50 à 53 degrés. Pour Chauveau, dans cette action, l'influence de l'oxygène est nulle ; c'est par l'excès de la chaleur seul que les cultures s'atténuent, s'altèrent et meurent. Chamberland et Roux (1) sont parvenus, comme Toussaint, à obtenir une atténuation de virulence, en ajoutant aux cultures des doses plus ou moins fortes d'antiseptiques ; pour eux, la condition exclusive de l'atténuation serait aussi le manque de formation de spores, déterminé par le composé toxique. D'autres facteurs donnent des résultats identiques ; Chauveau (2) a obtenu une atténuation rapide en faisant agir l'oxygène comprimé ; Arloing (3) a observé une diminution graduelle et finalement une disparition complète de la virulence des cultures sous l'influence des rayons solaires. C'est encore cependant jusqu'ici la méthode de Pasteur qui donne les résultats les plus constants et les plus sûrs.

La vaccination charbonneuse d'après la méthode de Pasteur est entrée aujourd'hui dans le domaine de la grande pratique ; appliquée au mouton, elle a pour résultat une très grande diminution de la mortalité dans certains districts où le sang de rate causait des pertes considérables.

On a vu qu'en faisant intervenir assez longtemps l'action combinée de l'air et de la chaleur, il était possible d'obtenir des cultures tout à fait dépourvues de virulence et conservant indéfiniment cette propriété, tout en végétant bien dans les milieux ordinaires. C'est un exemple d'une transformation d'une espèce pathogène en saprophyte ; mais il faut se hâter d'ajouter qu'on ne peut pas affirmer qu'elle ne redevienne pathogène à un moment donné, sous l'influence de conditions qui sont inconnues jusqu'ici.

Hankin (4) était parvenu à immuniser des lapins et des souris contre le charbon en leur inoculant des doses très minimes de l'albumose qu'il retirait des cultures. Les expériences de Petermann (5) et celles ultérieures de Hankin et Wesbrook (6) ont dû faire reconnaître que si cette immunité s'observait, elle était au moins irrégulière et peu durable. Roux et Chamberland (7), Feltz (8) dès 1882, avaient réussi à conférer aux lapins une immunité complète en se servant de vaccins charbonneux de force progressivement croissante. Marchoux (9), reprenant ces données, a montré qu'il était possible, en prenant les précautions voulues pour les diverses inoculations, d'arriver à immuniser parfaitement des lapins et des moutons.

Ce dernier expérimentateur a démontré en outre que le sérum des

(1) Chamberland et Roux, Sur l'atténuation de la virulence de la Bactéridie charbonneuse sous l'influence des antiseptiques (*Ibid.*, XCVII, 1883, p. 1088 et 1410).

(2) Chauveau, De l'atténuation des cultures virulentes par l'oxygène comprimé (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCVIII, 1884, p. 1232, et C, 1885, p. 320).

(3) Arloing, Influence de la lumière blanche et de ses rayons constituants sur le développement et les propriétés du *Bacillus anthracis* (*Arch. de phys.*, t. VII, 1886, p. 209)

(4) Hankin, *loc. cit.*, p. 497.

(5) Petermann, Recherches sur l'immunité contre le charbon au moyen des albumoses extraites des cultures (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 32).

(6) Hankin et Wesbrook, *loc. cit.*, p. 489.

(7) Roux et Chamberland, Vaccination du lapin contre le charbon (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 513, et II, 1888, p. 405).

(8) V. Feltz (de Nancy), *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1882, p. 859.

(9) Marchoux, Sérum anticharbonneux (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 785).

animaux ainsi immunisés, puis soumis à des inoculations de cultures très virulentes, présentait des propriétés préventives et curatives vis-à-vis de l'infection charbonneuse. Le sérum des lapins est relativement peu actif ; de plus, en saignant par la fémorale ou la carotide, on peut tout au plus obtenir de 50 à 70 centimètres cubes de sang par animal. Les moutons, au contraire, peuvent d'abord fournir beaucoup plus de sang et de plus, une fois vaccinés, supportent très bien l'injection sous-cutanée de doses de plus en plus fortes, jusqu'à 250 et 300 centimètres cubes, de cultures très virulentes. Leur sérum, recueilli de quinze jours à trois semaines après l'inoculation, a une activité beaucoup plus grande que le sérum de lapin ; 1 centimètre cube injecté vingt-quatre heures avant l'inoculation virulente y rend réfractaire un lapin de 2 kilogrammes. Un tel sérum est préventif et curatif. Jusqu'ici, on n'en a pas encore fait d'application à l'homme.

Habitat et rôle étiologique.

La porte d'entrée du virus dans l'organisme, pour nos animaux domestiques, paraît être la surface du tube digestif; Pasteur a montré qu'en mêlant à des aliments contaminés par des cultures virulentes, des substances dures, piquantes, pouvant léser la paroi du tube intestinal, on déterminait, chez les moutons, des contaminations dans une proportion énorme. Il serait nécessaire pour lui qu'il existât sur la muqueuse, celle des voies antérieures surtout, pharynx, œsophage, des éraillures qui permissent le passage direct des Bactéries dans le sang. Pour Koch (1), point n'est besoin de ces lésions, la pénétration se fait directement par la muqueuse intestinale ; mais comme les cellules végétatives sont tuées par le suc gastrique, pour qu'il y ait infection dans ce cas, il faut que l'animal ait avalé des spores. Celles-ci passent intactes dans l'intestin et y trouvent un milieu alcalin favorable à leur germination ; elles donnent des bâtonnets qui se multiplient et pénètrent dans le sang en traversant la muqueuse. L'infection se produit donc par les voies digestives ; c'est un point à retenir pour tracer la prophylaxie de cette affection. Elle pourrait se faire aussi par les voies respiratoires ; Büchner (2) a réussi à faire périr du charbon des souris qu'il confinait dans un espace où étaient pulvérisées des poussières fines, inertes, auxquelles il avait mélangé des spores de *Bacillus anthracis*.

Quelle peut être maintenant l'origine de ces spores qui se mêlent aux aliments des moutons, vaches, chevaux, et leur communiquent le charbon soi-disant spontané ? Elles proviennent des produits et des cadavres d'animaux charbonneux. Pasteur, Chamberland et Roux (3) ont pu élucider cette question si importante de l'étiologie des affections charbonneuses dans des séries d'expériences tout à fait remarquables. Lorsqu'on enterre un animal mort du charbon, il se répand sur la terre

(1) Koch, Zur Aetiologie der Milzbrandes (*Milth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881, p. 40), et : Koch, Gaffky et Loeffler, Experim. Studien über Milzbrandinfection durch Fütterungen (*Ibid.*, II, 1884, p. 147).

(2) Buchner, Versuche über die Entstehung der Milzbrandes durch Eineathmung (*Naegeli's Untersuch. über niedere Pilze*. München, 1882, p. 178).

(3) Pasteur, Chamberland et Roux, Sur l'étiologie du charbon (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCI, 1880, p. 42), et Pasteur, La prophylaxie et l'étiologie du charbon (*Bull. de l'Acad. de méd.*, IX, 1880, p. 1138).

environnante du sang ou d'autres liquides contenant des Bactéries du charbon en abondance ; ces cellules, pouvant se trouver dans de bonnes conditions d'aération et de température, vont donner des spores dont Pasteur a pu, du reste, constater la présence dans la terre recouvrant des fosses d'animaux charbonneux, enterrés, dans un cas, depuis douze ans. En soumettant l'eau de lévigation de cette terre à une température de 90° pendant vingt minutes, il tue tous les germes qu'elle contient, à part ceux du *Vibrion septique* et de la *Bactérie du charbon*, s'il en existe. Les animaux inoculés, dans les cas positifs, meurent, soit du charbon, soit de la septicémie. Pasteur a ainsi pu retrouver des spores dans la couche superficielle de fosses où avaient été enfouis des animaux charbonneux plusieurs années auparavant, et démontrer ainsi directement la longévité et la résistance extraordinaire de ces corps reproducteurs. Pour lui, en outre, les spores formées dans la terre autour du cadavre, avant que la putréfaction vienne tuer les Bactéries, pourraient être ramenées à la surface par les Vers de terre qui avalent, dans les profondeurs du sol, des parcelles de terre pour en retirer les substances nutritives qu'elles contiennent et les rendent à la surface sous forme de petits cylindres diversement contournés. Il a en effet déterminé des cas de charbon typique en inoculant à des cobayes de ces petits cylindres vermiculés, produits par des Vers élevés dans de la terre qui avait été arrosée par des cultures virulentes. De nouvelles expériences de V. Feltz (1) sont venues confirmer ces résultats importants. Ces spores peuvent contaminer sur place ou être emportées au loin par les eaux de pluie ou de ruisseau, et transporter ainsi l'affection dans des endroits où n'ont jamais été enfouis d'animaux charbonneux. Heim (2) donne les Coléoptères nécrophages comme pouvant remplir le même rôle. Poincaré (3) dit en avoir constaté la présence dans les eaux de certaines prairies, mais les résultats qu'il a annoncés peuvent être infirmés. Diatroptoff (4) a isolé le *Bacille du charbon* de la vase d'un puits d'une ferme où régnait la fièvre charbonneuse. Toutes ces chances de contamination sont considérablement multipliées lorsque les cadavres sont abandonnés à la surface du sol ou enfouis à une faible profondeur et déterrés aussitôt par les carnassiers, chose malheureusement trop fréquente dans les campagnes. D'après les expériences de V. Feltz (5), il se produirait, dans des conditions peu connues encore, une atténuation sensible de la virulence des Bactéries du charbon séjournant dans la terre; elles ne tuent plus les lapins qu'elles vaccinent, mais font encore périr les cobayes.

Le charbon par contamination interne, si fréquent chez les animaux, est par contre rare chez l'homme où le point de pénétration du virus est d'habitude le tégument externe lésé. La première manifestation de l'in-

(1) Feltz, Sur le rôle des Vers de terre dans la propagation du charbon et sur l'atténuation du virus charbonneux (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCV, 1882, p. 859).

(2) Heim, Rôle des Coléoptères dans la dissémination du charbon (*Soc. de Biol.*, 2 février 1894).

(3) Poincaré, Sur la production du charbon par les pâturages (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCI, 1880, p. 179).

(4) Diatroptoff, Bactéries charbonneuses dans la vase du fond d'un puits (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 286).

(5) Feltz, Expériences démontrant que dans certaines conditions le virus charbonneux s'atténue dans la terre (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CII, 1886, p. 132).

fection de l'organisme est alors une lésion purement locale (1). C'est d'abord une petite tache rouge donnant une vésicule brunâtre, qui s'ouvre et montre une ulcération rouge livide; les parties environnantes se tuméfient; les douleurs sont sourdes et peu accusées. Trois ou quatre jours après l'apparition de la première tache, la fièvre apparaît, indiquant la généralisation de l'infection. L'état général devient très grave et la mort arrive; ou bien un mieux survient, l'escarre se limite et est éliminée peu à peu, la guérison se fait lentement. C'est l'affection charbonneuse décrite sous le nom de *pustule maligne*. Cette affection s'observe surtout dans les contrées où règnent les épizooties charbonneuses et chez les individus maniant les dépouilles d'animaux charbonneux : bergers, bouchers, tanneurs, travailleurs des peaux, des laines ou des poils, etc. L'inoculation se fait par le contact de produits virulents avec des solutions de continuité de la peau, blessures ou simples éraillures. Les Mouches à trompe piquante, les *Taons*, les *Asiles* surtout, même les *Stomoxes* qui ressemblent beaucoup à la Mouche ordinaire, peuvent assurément servir à transporter le virus en allant piquer l'homme après s'être repus de sang d'animaux charbonneux, s'il est resté après leur trompe des bâtonnets ou des spores : mais ce mode de contagion doit être de beaucoup le plus rare, si tant est qu'il existe. Le malade invoque bien souvent une piqûre, mais tout au début la pustule est prurigineuse, le malade se gratte et s'écorche; il croît que la petite papule initiale a été produite par une piqûre d'insecte. Il existe en outre chez l'homme un véritable *charbon interne*, où l'infection se fait, comme pour le *sang de rate* du mouton, la *fièvre charbonneuse* de la vache, par la voie intestinale. Et la principale cause, sinon l'unique, en est l'usage de la viande d'animaux charbonneux, qui est malheureusement encore maintenant, dans bien des endroits, regardée comme tout à fait inoffensive. Ce charbon interne (mycose intestinale) est fréquent dans certaines contrées et d'ordinaire assez rapidement mortel; on signale cependant quelques cas plus bénins qui se sont terminés par guérison, mais c'est l'exception (2). Enfin la voie d'entrée chez l'homme peut être l'appareil respiratoire, comme dans les expériences de Büchner citées plus haut. C'est sans doute l'origine des cas de charbon interne si fréquents chez les trieurs de laine (3) (*charbon broncho-pulmonaire*, *maladie des trieurs de laine*), chez les ouvriers qui manient les cornes ou les crins pouvant provenir d'animaux charbonneux, et de certains cas de l'affection complexe, se rapprochant plutôt des septicémies produites par d'autres Bactéries, connue sous le nom de *maladie des chiffonniers* (4); les ouvriers exerçant ces professions sont en effet très exposés à absorber des spores de *Bacillus anthracis* avec les poussières qu'ils respirent.

Les belles recherches de Pasteur ont prouvé avec la dernière évidence quels sont les résultats auxquels on est en droit de s'attendre, pour la prophylaxie des maladies charbonneuses de l'homme et des animaux, en

(1) Straus, Contribution à l'anatomie pathologique de la pustule maligne (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 429).

(2) Tavel, *Correspondenzbl. für Schweizer Aertze*, 15 juillet 1887.

(3) Lodge, La maladie des trieurs de laine (*Arch. de méd. expér.*, 1890, p. 759).

(4) Paltauf, Zur Aetiologie der Hadernkrankheit (*Wiener klin. Wochenschr.*, 1888, nos 18, 26). — Eppinger, Pathologische Anatomie und Pathogenesis der sogenannten Hadernkrankheit (*Ibid.*, 1888, nos 37, 38).

mettant à profit les faits acquis. L'enfouissement profond des cadavres d'animaux charbonneux est nécessaire; leur incinération complète devrait être obligatoire, et aussi la désinfection la plus parfaite possible, au moins à l'eau bouillante, des parties souillées de sang, de liquides organiques ou de déjections. La consommation de la viande charbonneuse doit être sévèrement prohibée. Elle se reconnaît facilement à ses caractères bien spéciaux (1). Les muscles sont d'une couleur brun rouge pâle, parfois un peu jaunâtre; ils ont un aspect lavé, souvent presque rose-saumon. Le tissu en est mou, friable; ils laissent écouler à la coupe un sang noir, visqueux, tachant les doigts en brun rouge, se coagulant très lentement et gardant sa teinte foncée à l'air. De plus, cette viande se putréfie bien plus rapidement et peut alors déterminer des accidents septicémiques. Nous avons vu que le lait des vaches charbonneuses peut aussi être virulent. Les autorités sont suffisamment armées par la législation; toute négligence de leur part est coupable.

Recherche et diagnostic.

Chez l'homme, dans le cas de pustule maligne, la sérosité de la pustule montre en grande abondance des *Bacilles du charbon* bien évidents. Dans le cas de charbon interne, le sang, surtout le sang du cœur, en offre le plus souvent.

Chez l'animal, l'examen microscopique du sang lèvera le plus souvent tous les doutes.

Lorsque la mort date de quelque temps, on rencontre souvent dans le sang d'autres Bactéries qui peuvent prêter à confusion, surtout du *Vibrion septique*, diverses espèces des putréfactions. L'aspect tout spécial des *Bacilles du charbon* dans les préparations colorées, indiqué p. 483, fera aisément reconnaître ces derniers; c'est un des caractères que l'on devra toujours chercher en premier lieu.

Enfin les cultures, bien caractéristiques, et l'inoculation au cobaye que l'on peut prendre comme réactif du charbon, permettront souvent de poser un diagnostic assuré.

Burri (2), puis Hartleb et Stutzer (3), ont signalé, sous le nom de *Bacillus pseudanthracis*, dans des poudres de viandes, un Bacille semblable morphologiquement au *Bacillus anthracis*, mais dépourvu de toute virulence. Il en est de même du *Bacillus anthracis similis* rencontré dans le pus d'un abcès par Mac Farland (4) dont les cultures étaient absolument identiques. Ce sont peut-être des microbes voisins ou du vrai *Bacillus anthracis* dépourvu de toute virulence, devenu simple saprophyte. Les cultures de terre donnent parfois de semblables espèces, tel le *Bacillus anthracoides* de Hueppe et Cartwright Wood (5).

Séro-diagnostic. — Les Bacilles des cultures se prêtent difficilement à l'étude de l'agglutination, parce qu'ils sont d'ordinaire accolés les uns aux autres ou unis en filaments. Les éléments des cultures de premier vaccin charbonneux de Pasteur se dissocient très aisément et conviennent alors

(1) Macé, Les substances alimentaires étudiées au microscope surtout au point de vue de leurs altérations et de leurs falsifications. Paris, J.-B. Baillière, 1891, p. 100.

(2) Burri, *Hygienische Rundschau*, 1894, n° 7.

(3) Hartleb et Stutzer, Das Vorkommen von Bacillus pseudanthracis im Fleischfuttermehl (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., III, 1897, p. 81).

(4) Mac Farland, Bacillus anthracis similis (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 556)

(5) Hueppe U. Wood, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1889, n° 16.

mieux pour ces observations. Lambotte et Maréchal (1) ont remarqué que le sérum du sang humain normal agglutinait très fortement les émulsions de telles cultures, de sorte qu'il devient difficile d'essayer le séro-diagnostic dans ces conditions; l'agglutination se produirait encore à 1 p. 500, avec le sérum de certains sujets. Le sérum du rat, du cobaye, du chien, de la chèvre, du lapin, du bœuf et du cheval, n'est pas doué d'un pouvoir agglutinant aussi considérable; le maximum ne dépasse pas 1 p. 50.

BACILLUS TUBERCULOSIS Koch.

(*Bacille de la tuberculose*, *Bacille de Koch.*)

ATLAS DE MICROBIOLOGIE, PL. I ET II.

La découverte, par Villemin (2), de l'inoculation du tubercule, sur laquelle il a basé la théorie de la contagiosité de la tuberculose, rendait très probable la présence, dans les matières virulentes, d'un agent infectieux de nature bactérienne. Cette théorie, qui fut l'objet au début d'une opposition si soutenue, reçut une confirmation éclatante lors de la découverte, par Robert Koch (3), du *Bacille de la tuberculose* et de l'étude complète qu'il fit de ses propriétés. La grande difficulté de distinguer ces Bactéries, très petites et tout à fait transparentes, des liquides ou des tissus de même réfringence qu'elles, et l'impossibilité où l'on se trouvait de les différencier d'autres inoffensives, très fréquentes dans les crachats surtout, étaient de grands problèmes que Koch est parvenu à résoudre, tout à son honneur, à force de science et de travail soutenu. Il est d'abord parvenu à les colorer, en soumettant les préparations à l'action d'un bain colorant alcalinisé (Voy. p. 295), beaucoup plus actif que les solutions aqueuses simples qui, jusque-là, n'avaient donné aucun résultat. Il fit plus; en mettant à profit la propriété inverse et corrélative que possèdent ces Bacilles de retenir la couleur bien plus longtemps que la plupart des autres et de ne la céder qu'après une action prolongée du réactif décolorant, il a pu leur conserver, dans une préparation complexe, une nuance donnée et teindre d'une couleur de fond différente les éléments divers et les autres Bactéries contenues dans la substance examinée (Voy. p. 304). Restait à prouver que ces organismes rencontrés dans les produits tuberculeux de l'homme et des animaux, surtout dans la *pommelière* de la vache, étaient la cause réelle de l'affection et l'origine du contage. Koch l'a fait en isolant cette Bactérie, en obtenant des cultures pures et en reproduisant la maladie typique par inoculation de ces cultures. La méthode suivie par Koch a été perfectionnée depuis par de nombreux observateurs dont les travaux ont fait de la recherche du *Bacille tuberculeux* un des points essentiels du diagnostic de la tuberculose, surtout au début, alors que les symptômes ordinaires sont peu prononcés ou peuvent faire défaut et alors qu'un traitement bien institué a des chances beaucoup plus nombreuses d'amener des résultats favorables.

(1) LAMBOTTE et MARÉCHAL, L'agglutination du Bacille charbonneux par le sang humain normal (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899).

(2) VILLEMIN, Causes et nature de la tuberculose (*Bull. de l'Acad. de méd.*, XXXII, 1886, p. 152 et 897), et Études sur la tuberculose. Paris, 1868, J.-B. Baillière.

(3) KOCH, Die Actiologie der Tuberculose (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, 1884, p. 1).

Koch traitait les coupes de tissus et les lamelles préparées en étendant des crachats ou d'autres liquides en une mince couche à la surface, séchant et fixant par trois passages dans la flamme, par un bain colorant alcalin, préparé (Voy. p. 295) en mélangeant :

Solution alcoolique concentrée de bleu de méthylène..	1 volume.
Solution de potasse à 10 p. 100........................	2 volumes.
Eau distillée..	200 —

Les préparations devaient séjourner un jour dans la solution froide ou quelques heures seulement en chauffant à 40 ou 50 degrés. En plongeant alors les préparations dans une solution aqueuse concentrée de vésuvine, on observe qu'au bout d'un quart d'heure environ la couleur brune s'est substituée à la teinte primitive bleue dans tous les éléments retenant faiblement la couleur, tandis qu'elle persiste sur les *Bacilles tuberculeux* dès lors très facilement reconnaissables, colorés en bleu sur un fond d'éléments bruns. La réaction était d'autant plus caractéristique que, d'après les recherches de Koch, aucune autre Bactérie ne se comportait de la sorte, excepté toutefois le *Bacille de la lèpre*, que d'autres particularités peuvent du reste faire aisément distinguer.

Les nombreuses recherches ultérieures n'ont fait que confirmer et étendre les importantes découvertes de Koch. En raison de la part considérable et toujours croissante, semble-t-il, qu'elle prend dans le monde vivant, la tuberculose est une des maladies microbiennes qui, de notre temps, a attiré et attire le plus les chercheurs et a suscité le plus de travaux. On trouvera l'exposé fidèle et une critique savante de tout ce qui a été écrit d'important sur ce sujet dans une belle monographie publiée par Straus (1) en 1865, et dans l'excellent opuscule de Nocard (2).

La tuberculose s'attaque à pas mal d'espèces vivantes, l'homme et les mammifères d'un côté, les oiseaux de l'autre.

Les premières recherches de Koch avaient démontré l'identité micro bienne de la *tuberculose humaine* et de la *tuberculose bovine*. Celle de la *tuberculose aviaire*, admise aujourd'hui par la majorité des expérimen tateurs, a été plus discutée.

La présence de tubercules, la tuberculose anatomiquement caractérisée par ces lésions, est connue depuis longtemps chez les oiseaux, tout particulièrement chez les Gallinacés domestiques où tous sont d'accord pour admettre sa grande fréquence.

Koch (3), le premier, constata la présence du *Bacille de la tuberculose* dans les lésions du foie et de l'intestin de poules tuberculeuses. Il ne mit pas en doute son identité avec celui de la tuberculose de l'homme. Ribbert (4), Babès (5), Cornil et Mégnin (6) ont donné de plus amples détails sur la description de ces Bacilles des poules et les rapports qu'ils affectent avec les divers éléments des parties lésées, tout en mettant en relief leur grande ressemblance avec les Bacilles trouvés dans les lésions de la tuberculose humaine. Nocard citait une observation où des poules semblaient s'être infectées en ingérant des crachats d'un

(1) Straus, La tuberculose et son Bacille, 1895.
(2) Nocard, Les tuberculoses animales (*Encyclopédie Léauté*, G. Masson).
(3) Koch, Die Aetiologie der T. (*loc. cit.*).
(4) Ribbert, Tuberkelbacillen bei Hühnern (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1883, p. 413).
(5) Babès, *Journ. des conn. méd.*, 1883.
(6) Cornil et Mégnin, *Soc. de Biol.*, octobre 1884, et *Journ. de l'anat.*, 1885.

phtisique; il avait du reste, comme Koch, rendu tuberculeuses des poules en leur faisant avaler des produits tuberculeux de mammifères. H. Martin (1) n'avait cependant obtenu aucun résultat en faisant absorber à des poules, des coqs, un pigeon, des lésions de tuberculose humaine.

C'est alors, en 1888, qu'on voulut séparer d'une façon bien nette la tuberculose humaine de la tuberculose aviaire et faire des deux microbes rencontrés dans ces affections deux espèces parfaitement distinctes. De nombreuses expériences démontraient, à l'appui de celles de H. Martin, que les poules nourries pendant longtemps de crachats de phtisiques ne devenaient jamais tuberculeuses. Les raisons de cette dualité d'espèces sont très bien exposées dans un travail de Straus et Gamaléia (2), datant de 1891, qui se montrent très partisans de la séparation. Elles portent surtout sur deux points : l'apparence des cultures sur certains milieux et les effets des inoculations expérimentales. On peut les résumer dans les cinq propositions suivantes :

1° Les cultures de la tuberculose humaine sont sèches, écailleuses ou verruqueuses; celles de la tuberculose aviaire sont humides, grasses, plissées et molles;

2° Le Bacille de la tuberculose humaine ne pousse guère au-dessus de 41°, pas du tout à 43°; celui de la tuberculose aviaire pousse rapidement et abondamment à cette température;

3° L'inoculation au cobaye et au lapin du Bacille de la tuberculose humaine détermine l'apparition de tubercules dans le poumon, le foie et la rate; celle du Bacille de la tuberculose aviaire les tue sans lésions apparentes; il y a infiltration tuberculeuse des organes;

4° Le chien est infesté facilement avec la tuberculose humaine; il jouit d'une immunité très grande à l'égard de la tuberculose aviaire;

5° Les poules sont tout à fait réfractaires à la tuberculose humaine.

De nombreuses expériences, faites depuis, permettent de répondre à toutes ces objections.

Pour la première, depuis l'emploi de milieux glycérinés pour les cultures, il est amplement démontré qu'au bout de quelques cultures le Bacille de la tuberculose humaine prend tous les caractères que l'on donnait comme spéciaux à la tuberculose aviaire. Ceux-là mêmes deviennent ses caractères habituels; la forme sèche, écailleuse ou verruqueuse, devient rare. Les superbes cultures qui sortent du laboratoire de Nocard convaincront les plus sceptiques. D'un autre côté, la tuberculose aviaire donne parfois des cultures sèches, écailleuses ou verruqueuses, considérées comme spéciales à la première. Fischel (3) dit avoir transformé sous ce rapport de la tuberculose humaine en type aviaire et inversement en faisant des cultures sur l'œuf de poule d'abord, puis sur gélose boriquée. Nocard (4) est parvenu à donner au Bacille de la tuberculose hu-

(1) H. Martin, Virulence des microbes tuberculeux (*Études sur la T. publiées par Verneuil*, 1887).

(2) Straus et Gamaléia, Recherches expér. sur la T. humaine et sa distinction de la T. des Oiseaux (*Arch. de méd. expér.*, III, 1891, p. 457).

(3) Fischel, Der Morphologie und Biologie der Tuberkelbacillus (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1893, n° 41).

(4) Nocard, Sur les relations qui existent entre la T. humaine et la T. aviaire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 561).

maine tous les caractères biologiques et la virulence qui caractérisent le type aviaire, en le cultivant en sacs de collodion dans le péritoine des poules.

Quant à la facilité de végéter à 43°, on peut admettre qu'elle provient d'une adaptation spéciale du Bacille aviaire à l'organisme de l'Oiseau dont la température est plus élevée que celle du Mammifère.

La différence des résultats dans l'inoculation des deux types est loin d'être aussi tranchée qu'on l'avait annoncé. Yersin (1) a observé l'infiltration tuberculeuse aussi bien avec la tuberculose d'origine bovine qu'avec la tuberculose aviaire; Fischel, en se servant de ses cultures de tuberculose humaine modifiée en type aviaire, a aussi obtenu la mort de lapins sans lésions tuberculeuses apparentes. Nocard (2), puis Courmont et Dor (3), Sanchez-Toledo (4), ont déterminé des tuberculoses typiques chez des Mammifères avec des cultures de tuberculose aviaire. Cadiot, Gilbert et Roger (5), ont obtenu chez le lapin, avec la tuberculose aviaire, tantôt des lésions tuberculeuses manifestes, tantôt l'infiltration tuberculeuse. Grancher et Ledoux-Lebard (6) obtiennent l'un ou l'autre type chez le lapin, par inoculation intraveineuse, suivant la dose de culture employée ; une dose minime donne une tuberculose à lésions apparentes, une dose plus forte produit l'infiltration tuberculeuse.

Les expériences de Richet et Héricourt (7) prouvent que le chien peut présenter une tuberculose classique par inoculation de tuberculose aviaire.

En ce qui concerne la réceptivité de la poule à la tuberculose humaine, Koch a obtenu des tubercules chez plusieurs individus avec des produits tuberculeux humains; Nocard, Cadiot, Gilbert et Roger (8) ont observé des tubercules chez la poule à la suite d'ingestion ou d'inoculation de produits tuberculeux humains ou de cultures de même provenance. La question paraît donc bien tranchée ; il y a, il est vrai, difficulté assez grande d'arriver au résultat cherché, mais non impossibilité ; c'est une simple question d'adaptation à un milieu différent.

Enfin, les Bacilles de provenance humaine et bovine et ceux d'origine aviaire fabriquent des produits solubles à action identique. Roux reconnaît que la tuberculine obtenue à l'aide de cultures aviaires produit absolument les mêmes effets, sur l'animal et sur l'homme, que la tuberculine des cultures de tuberculose humaine.

On voit donc qu'il est légitime de conclure qu'il n'y a pas là deux espèces distinctes, mais seulement deux simples variétés d'une même

(1) Yersin, Études sur le développement du tubercule expérimental (*Ann. de l'Inste Pasteur*, II, 1888, p. 245).

(2) Nocard, Recherches expérimentales sur la T. des Oiseaux (*Soc. de Biol.*, 17 octobre 1885).

(3) Courmont et Dor, De la production, chez le lapin, de tumeurs blanches expér. par inoculation intraveineuse de Bacilles tuberc. aviaires atténués (*Soc. de Biol.*, 8 novembre 1890 et 21 février 1891).

(4) Sanchez-Toledo, Transmission de la T. de la mère au fœtus (*Arch. de méd. expér.*, 1889).

(5) Cadiot, Gilbert et Roger, T. des volailles (*Soc. de Biol.*, 11 oct. 1890).

(6) Grancher et Ledoux-Lebard, Étude sur la T. expérimentale du lapin (*Arch. de méd. expér.*, 1891, p. 146). — *Id.*, T. aviaire et humaine (*Ibid.*, 1892, p. 1).

(7) Richet et Héricourt, Études expér. et clin. sur la T. publiées par Verneuil, II, 1890.

(8) Cadiot, Gilbert et Roger, Inoculation aux Gallinacés de la T. des Mammifères (*Soc. de Biol.*, 25 juillet 1891).

espèce, dans la constitution desquelles doivent surtout intervenir les questions d'adaptation à des organismes différents. Il en est de même pour les autres tuberculoses, soit des Mammifères (tuberculose du porc principalement), soit des autres Oiseaux (oiseaux de volière, perroquets) (1).

La spécificité du microbe étant démontrée, les lésions observées sont-elles aussi spécifiques, pathognomoniques? On l'a cru longtemps, admettant que le tubercule était l'expression de l'infection tuberculeuse. Il faut reconnaître que non; le tubercule n'est que l'expression d'une réaction de l'organisme contre certaines irritations. Il y a des affections à tubercules qui ne sont nullement sous la dépendance du *Bacille de la tuberculose*; il sera dit quelques mots plus loin des *pseudo-tuberculoses* qui peuvent être dues à des organismes bien différents, à d'autres Bactéries, à des Champignons inférieurs, à des Protozoaires, à des œufs d'Helminthes, voire même à des poussières inertes.

Le Bacille pénètre dans un tissu, apporté du point d'inoculation par un globule blanc qui a suivi la voie lymphatique ou sanguine. Le leucocyte se fixe et se détruit en mettant en liberté le ou les Bacilles qu'il contient. Il se forme autour d'eux, par diapédèse, une agglomération leucocytaire donnant autour des Bacilles qui se sont multipliés un petit nodule, premier rudiment du tubercule. Les éléments du nodule et aussi des cellules voisines du tissu envahi subissent la transformation épithélioïde; à la partie centrale se trouvent une ou plusieurs *cellules géantes* (fig. 212), éléments de grande taille à nombreux noyaux que l'on considère tantôt comme des éléments formés par un ou plusieurs leucocytes devenus confluents, en voie de dégénérescence et de nécrobiose, où les noyaux continueraient seuls à se diviser; tantôt au contraire, avec Metschnikoff (2), comme des éléments très actifs, de véritables phagocytes, luttant contre le *Bacille tuberculeux*. C'est surtout dans les cellules géantes que se trouvent alors les Bacilles, et souvent en grand nombre. Le tubercule se trouve constitué. Il évolue suivant deux directions. Ses éléments peuvent se transformer en un tissu fibreux qui détermine en quelque sorte l'enkystement du produit virulent, et peut l'isoler complètement; cette production du *tubercule fibreux*, *granulation fibreuse*, est un processus favorable, de guérison. Ou bien, au contraire, les éléments du nodule subissent une sorte de dégénérescence vitreuse ou colloïde, se nécrosent et se transforment en une matière jaunâtre, la *matière caséeuse*, qui se ramollit sous l'influence des produits sécrétés par le microbe. C'est

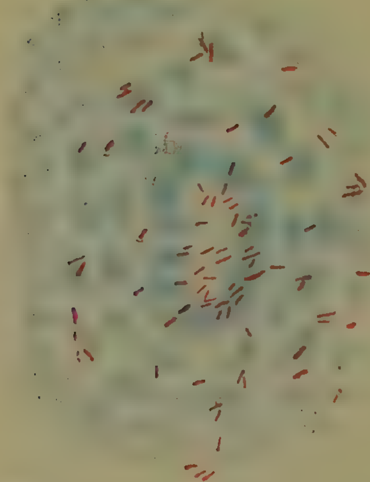


Fig. 212. — Follicule tuberculeux ; stade de début (demi-schématique). Au centre, cellule géante avec nombreux bacilles; autour, cellules épithélioïdes et cellules lymphoïdes plus petites. Environ 800/1.

(1) Straus, Sur la T. du perroquet (*Arch. de méd. expér.*, 1896, n° 1).

(2) Metschnikoff, Ueber die phagocytäre Rolle der Tuberkelriesenzellen (*Virchow's Arch.*, CXIII, 1888, p. 63).

le *tubercule caséeux*. Les leucocytes des alentours peuvent transporter des Bacilles dans d'autres parties du corps et y provoquer la formation d'autres lésions semblables ; c'est de cette manière que l'infection s'étend dans un même organe, peut gagner d'autres organes, même se généraliser. D'après Maurel (1), les tubercules se développeraient exclusivement dans les vaisseaux, aux dépens des leucocytes et des cellules endothéliales.

D'un autre côté, nous l'avons vu précédemment, toute lésion macroscopique fait défaut dans ce qu'on peut nommer l'*infiltration tuberculeuse*.

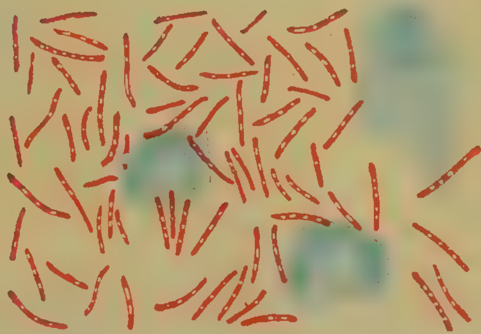


Fig. 213. — Bacilles tuberculeux dans les crachats. Coloration par la fuchsine et le bleu de méthyle. 1500/1.

Il ressort de là que l'infection tuberculeuse peut revêtir, aussi bien chez l'homme que chez l'animal, deux formes différentes. Dans l'une, on constate avec plus ou moins d'évidence la présence de tubercules ; c'est la forme bien étudiée par Villemin, d'où le nom de *type Villemin* sous lequel on peut la désigner. Dans l'autre, les lésions macroscopiques font défaut ; les organes atteints par le parasite, le foie, la rate surtout, qui sont simplement hypertrophiés et de coloration plus foncée, montrent, entre leurs éléments peu ou pas modifiés, de nombreux Bacilles épars ou des groupes de Bacilles ; c'est une véritable *infiltration tuberculeuse*, non pas dans le sens que Laënnec attribuait à cette dénomination par exemple ; on donne à cette forme le nom de *type Yersin* parce que cet expérimentateur l'a obtenue le premier expérimentalement aussi bien avec le Bacille humain qu'avec le Bacille aviaire.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les *Bacilles tuberculeux* vivants, des cultures, sont de petits bâtonnets hyalins, un peu plus épais que ceux des préparations colorées.

Les bâtonnets des préparations colorées (fig. 214) mesurent en longueur moyenne de 1,5 μ à 3,5 μ, du quart à la moitié d'un globule rouge. La largeur est plus uniforme, elle est d'ordinaire de 0,3 μ ; les Bacilles préparés par la méthode de Koch paraissent un peu plus minces que ceux colorés suivant le procédé d'Ehrlich. Ils sont droits ou plus fréquemment légèrement courbés (fig. 215), parfois même pliés d'après Koch. La largeur n'est souvent pas uniforme ; ils présentent parfois une série d'étranglements leur donnant l'apparence de boudins irréguliers, ou même, s'ils sont plus prononcés, d'une chaînette formée d'articles ovoïdes (fig. 216). C'est ce qui explique comment on a pu avancer que ces Bacilles se transformaient à un moment donné en une chaîne de coccus (2). A la suite de l'action des solutions colorantes, on

(1) Maurel, Histogenèse du tubercule (*Congrès de méd. de Montpellier*, 1898).
(2) Amann, Die feinere Structur der Tuberkelpilzen (*Schweiz. Wochenschr. für Pharm.*, 1887, n° 15).

distingue souvent dans le corps même du bâtonnet un nombre variable, quatre à six d'habitude, de vacuoles incolores, de forme ovalaire, que Koch croit être des spores, sans pouvoir toutefois en donner une preuve certaine (fig. 215). D'après lui, l'article qui se prépare à sporuler se divise d'abord en articles courts au nombre de deux au moins et de six au plus, dans chacun desquels apparaît un point brillant qui grandit et donne une spore réfringente.

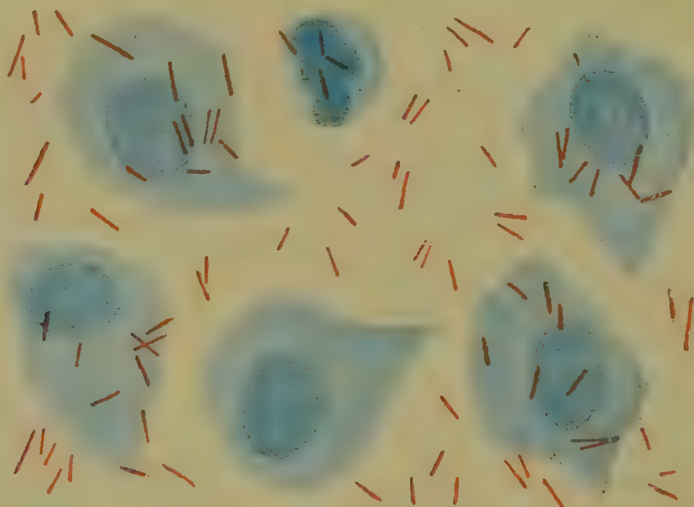


Fig. 214. — Bacilles tuberculeux. Préparation obtenue avec le suc de raclage d'un tubercule, 1500/1 (d'après Baumgarten).

Cette question de production de spores est encore loin d'être élucidée. Elle a cependant à bien des points de vue une importance considérable, la présence de spores chez une Bactérie comportant la manifestation de propriétés spéciales, en particulier une résistance souvent beaucoup plus grande aux agents de destruction. Ces points brillants peuvent n'être autre chose que de simples vacuoles (fig. 213 et 215).



Fig. 215. — Bacilles de la tuberculose. Object. 1/18, immers. homog., oc. 4, Zeiss (d'après Koch).

Les caractères précédents de forme et de dimensions sont cependant loin d'avoir une constance absolue ; on rencontre au contraire de nombreuses variantes en plus ou en moins. Les Bacilles des cultures offrent souvent un type de longueur réduite, une véritable *forme naine*. Les bâtonnets peuvent être très courts, très peu plus longs que larges. L'examen des crachats tuberculeux en fait parfois rencontrer de semblables.

Ou bien, au contraire, la longueur et aussi la largeur peuvent être beaucoup plus grandes ; ce sont de véritables formes géantes. Metschnikoff (1), puis Nocard et Roux (2), ont les premiers décrit de ces formes rencontrées dans les cultures, formes allongées, ramifiées, souvent renflées en massue (fig. 216). Metschnikoff les considère comme

(1) Metschnikoff, Ueber die phagocytäre Rolle der Tuberkelriesenzellen (*Virchow's Arch.*, CXIII, 1888, p. 63).

(2) Nocard et Roux, Sur la culture du Bacille de la T. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, II 1888, p. 24).

des formes d'involution. Czaplewski (1), Coppen Jones (2) les ont retrouvées dans les crachats où Babès (3) les avait déjà signalées en 1886. En s'appuyant sur la présence de ces formes ramifiées et renflées, certains rapprochent le *Bacille de la tuberculose* des *Cladothrix*, de l'*Actinomyces*, et ont même proposé pour lui le nom de *Sclerothrix Kochii*.

Babès et Levaditi (4) ont obtenu des granulations tuberculeuses rappelant de très près l'aspect et la structure des granulations d'*Actinomyces*, en injectant, après trépanation, dans les méninges et le cerveau de lapins, une culture sur gélose glycérinée de tuberculose humaine, peu virulente. La figure 218 est tout à fait convaincante. Les massues seraient produites par une véritable sécrétion des extrémités terminales des filaments ramifiés, rappelant tout à fait ce qui se rencontre pour l'*Actinomyces*.

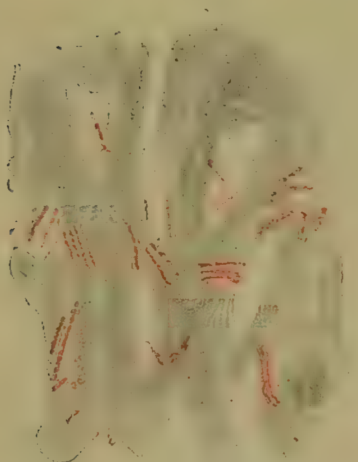


Fig. 216. — *Bacilles tuberculeux* dans des crachats. 1200/1.



Fig. 217. — Bacilles de la tuberculose, formes anormales, ramifiées et renflées (d'après Metschnikoff).

Schultze (5) a confirmé ces mêmes résultats et n'hésite pas à rapprocher le *Bacille de la tuberculose* de l'*Actinomyces*.

Jusqu'à plus ample informé, cependant, il paraît préférable de se rallier à l'opinion de Metschnikoff et faire de ces formes de simples déviations involutives du type normal.

La plupart des auteurs décrivent le *Bacille de la tuberculose* comme immobile ; Ferran (6) le premier le donne comme mobile. D'après

(1) Czaplewski, Die Untersuchung des Auswurfes auf Tuberkelbacillus. Iéna, 1891.

(2) Coppen Jones, Ueber die Morphologie und systematische Stellung des Tuberkelpilzes und über die Kolbenbildung bei Aktinomycose und Tuberkulose (*Centralbl. für Bakt.*, XVII, 1895, p. 1).

(3) Babès, *in* Cornil et Babès, Les Bactéries, 2e éd., 1886, p. 696.

(4) Babès et Levaditi, Sur la forme actinomycosique du Bacille de la T. (*Arch. de méd. expér.*, IX, 1897, p. 1041).

(5) O. Schultze, Untersuchungen über die Stratlenpilzformen des Tuberkuloseerreger (*Zeitschr. für Hygiene*, XXXI, 1899, p. 153).

(6) Ferran, Aptitudes saprophytes du Bacille de la T. ; des affinités avec le Bacille du typhus et le Colibacille ; propriétés immunisantes et thérapeutiques de ce Bacille converti en saprophyte (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 11 octobre 1897).

Schumowski (1), les bâtonnets auraient un mouvement vibratoire réel et un mouvement de déplacement lent, mouvements bien visibles dans une culture en goutte pendante ou en écrasant dans une goutte de bouillon une parcelle de culture sur gélose. C'est aussi l'opinion d'Arloing (voy. p. 515).

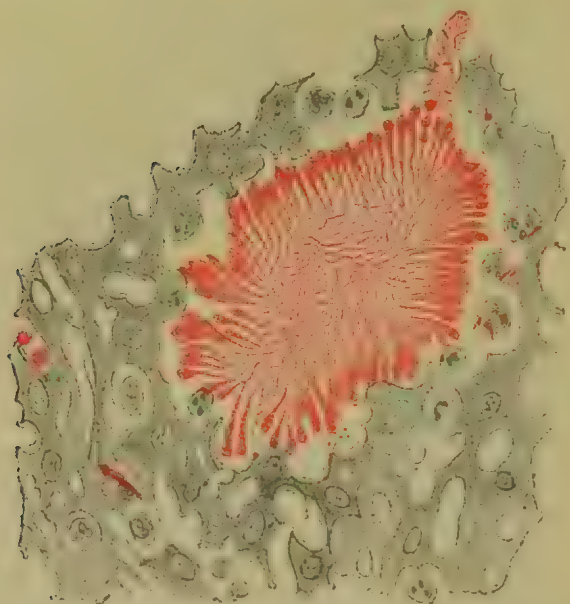


Fig. 218. — Granulation tuberculeuse des méninges du lapin. 1000/1 (d'après Babès).

Coloration. — Les Bacilles de la tuberculose se colorent à toutes les couleurs d'aniline. Avec les solutions aqueuses ordinaires, la coloration est très lente ; elle est plus rapide en ajoutant un mordant qui peut être un alcali, comme la potasse dans le procédé primitif de Koch, de l'huile d'aniline, de l'acide phénique. Les Bacilles qui se sont alors colorés conservent fortement la couleur; ils résistent, longtemps au moins, à l'action décolorante des acides, de l'alcool, ou d'autres bains colorants. Ils *restent colorés* par la méthode de Gram.

Cette grande résistance aux agents de décoloration est très avantageusement mise à profit pour la recherche des Bacilles tuberculeux dans les produits pathologiques où se trouvent souvent d'autres éléments bacillaires qui ne résistent pas à la décoloration et qu'il devient alors possible de différencier. C'est aussi un caractère très précieux lorsque l'on n'a affaire qu'au *Bacille de la tuberculose* seul.

Cette résistance à la décoloration est due, d'après Straus, à ce que les Bacilles contiennent une substance spéciale douée de la propriété de fixer et de retenir les couleurs d'aniline (voy. p. 519).

A vrai dire, le *Bacille de la tuberculose* n'est pas le seul qui présente cette particularité. Koch avait déjà cité le *Bacille de la lèpre* comme se comportant de la même façon que le premier. On peut l'en distinguer en ce qu'il se colore plus facilement que le Bacille de Koch par le bleu de méthylène alcalin, voire même par les simples solutions aqueuses de couleurs basiques d'aniline. De plus, il résiste mieux encore que le *Bacille de la tuberculose* aux agents décolorants ; l'acide azotique au tiers ne l'a pas encore décoloré au bout d'une heure, tandis que le Bacille de la tuberculose se décolore après un quart d'heure dans les mêmes conditions.

Le *Bacille du smegma* (2) peut, dans certaines conditions, résister à

(1) Schumowski, Ueber die Beweglichkeit der Tuberkelbacillen (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 838).

(2) Bienstock, Zur Frage der sogenannten Syphilisbacillen und Tuberkulbacillenfärbung (*Fortschr. der Med.*, 1886, p. 193).

la décoloration par l'acide nitrique au tiers ; c'est, en particulier, quand il est imprégné de graisse. En traitant pendant une dizaine de minutes les préparations par une lessive de soude additionnée de 5 p. 100 d'alcool, on enlève la graisse et en même temps la propriété de résister à la décoloration. Dans les mêmes conditions, le *Bacille de la tuberculose* reste coloré après action de l'acide.

Nicolle (1) donne en outre comme restant colorés par la même méthode le *Streptothrix du farcin du bœuf*, pour lequel j'ai obtenu des résultats opposés, et le microorganisme de la *verruga* du Pérou, décrit par Izquierdo (2), qui pourrait bien n'être que le *Bacille de la lèpre*. Quelques autres espèces, peu connues, peuvent également présenter cette même réaction dans des conditions spéciales ; il en sera parlé plus loin à propos du diagnostic.

En résumé, on peut admettre que, sauf les cas particuliers énoncés ci-dessus, le *Bacille de la tuberculose* est le seul qui résiste à la décoloration.

Les méthodes employées pour colorer d'une façon spéciale le *Bacille de Koch* sont excessivement nombreuses ; il n'y aurait aucun avantage à les citer toutes. Elles ne sont du reste que des modifications du *procédé d'Ehrlich* qui a perfectionné la méthode primitive de Koch exposée au commencement de cet article. Nous n'en citerons que quelques-unes, les principales :

Procédé d'Ehrlich. — Ehrlich se sert comme mordant d'*eau anilinée*, préparée comme il a été indiqué page 296 ; il faut toujours l'employer fraîche. Le bain colorant s'obtient en ajoutant un dixième de solution alcoolique saturée de la couleur d'aniline, fuchsine, bleu, violet, suivant la teinte que l'on veut obtenir. Le bain s'emploie chaud ; vers 60°, la coloration est plus rapide. On laisse les préparations dans le bain jusqu'à ce qu'elles soient *fortement* colorées ; une surcoloration n'est pas à craindre.

La décoloration se fait avec l'*acide nitrique au tiers* (p. 301) ; elle doit être poussée à fond, en se souvenant cependant que la résistance à la décoloration du Bacille a des limites ; il ne faut jamais dépasser quelques minutes ; toujours la décoloration est complète après une minute et même avant. En examinant de telles préparations, le *Bacille de la tuberculose*, s'il en existe, est seul resté coloré. Il est souvent très avantageux de faire une *double coloration* à l'aide d'un bain colorant d'une nuance qui tranche bien sur la première ; on se rend mieux compte de la nature des éléments autres qui peuvent se rencontrer dans la préparation (Voy. p. 304).

Procédé de Ziehl. — Le mordant employé est l'acide phénique. On peut se servir de la *solution de Ziehl* (p. 296) ou, plus avantageusement, de cette solution modifiée par Neelsen qui prend 1 gramme de fuchsine au lieu de 0gr,25. Ce liquide a le grand avantage de se conserver indéfiniment. On y met les préparations et on chauffe jusqu'à production de vapeurs. La décoloration se fait de préférence à l'acide sulfurique dilué

(1) Nicolle, Pratique des colorations microbiennes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 664).

(2) Izquierdo, *Virchow's Arch.*, XCIX, 1885.

(acide sulfurique, 25; eau 100). Rondelli et Buscalioni (1) emploient comme décolorant l'eau de Javel étendue de dix fois son poids d'eau.

Procédé de B. Fraenkel (2). — Les préparations sont colorées à chaud par la méthode d'Ehrlich, eau anilinée et fuchsine ou violet; après lavage, elles sont soumises, pendant une à deux minutes, à l'action du mélange suivant :

Alcool à 90°	50 centimètres cubes.
Eau distillée	30 — —
Acide azotique	20 — —
Bleu de méthylène	à saturation.

Le décolorant est uni au colorant de fond; le mélange se conserve indéfiniment.

Procédé de Kühne (3). — L'agent de différenciation est le chlorhydrate d'aniline qui a l'avantage de nuire beaucoup moins que les acides aux éléments cellulaires qui peuvent se rencontrer dans les préparations. C'est, sans contredit, le meilleur décolorant à employer; il a toutefois l'inconvénient d'être assez coûteux parce qu'il faut toujours employer des solutions fraîches.

Les préparations sont colorées dans la *solution de Ziehl* pendant dix minutes à un quart d'heure, placées pendant quelques secondes dans une solution de chlorhydrate d'aniline à 2 p. 100, ou même 4 et 5 p. 100, puis décolorées par l'alcool. La coloration de fond se fait à volonté.

Procédé de Hauser (4). — L'action décolorante des acides minéraux peut être trop énergique; en prolongeant un peu trop l'action du bain acide, le *Bacille tuberculeux* peut être décoloré. Les acides organiques ont des effets moins violents; Petri préconise dans ce but l'acide acétique glacial; Watson Cheyne, l'acide formique; Cornil, Alvarez et Tavel, l'acide oxalique. Hauser préfère les acides tartrique, citrique et surtout lactique, à 5 à 10 p. 100 en solution aqueuse ou à 2 ou 3 p. 100 en solution alcoolique. La préparation colorée au Ziehl à chaud, comme il a été indiqué ci-dessus, est soumise pendant quelques minutes au bain décolorant aqueux; ce contact peut même être prolongé pendant une demi-heure sans que, pour la majorité des Bacilles, la teinte baisse sensiblement; avec les solutions alcooliques, quelques secondes suffisent.

L'acide picrique donne aussi d'excellents résultats; on obtient dans ce cas une coloration de fond jaune qui facilite les recherches.

Nous reviendrons encore sur les méthodes de coloration à propos de la recherche du *Bacille tuberculeux* dans les produits pathologiques et du diagnostic de la tuberculose.

Cultures. — Le *Bacille de la tuberculose* se cultive facilement sur divers milieux. Il exige pour se développer une température relativement élevée; la multiplication commence à 28° ou 29°, est très faible à 30° et se fait au mieux vers 38°; à 41°, on n'observe plus aucune crois-

(1) Rondelli et Buscalioni, Ueber eine neue Färbungsmethode des Tuberkelbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 70).
(2) B. Fraenkel, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1884, n° 13.
(3) Borrel, T. pulmonaire expérimentale (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1889, p. 593).
(4) Hauser, Note sur la coloration du Bacille de la T. (*Soc. de Biol.*, 29 oct. 1897).

sance, même après un long temps, avec le Bacille humain ; le *Bacille aviaire* se développe encore bien à 43° et sensiblement même jusqu'à 45°. Même dans les meilleures conditions, les cultures demandent de huit à quinze jours pour apparaître.

Koch est parvenu le premier à cultiver cette espèce sur le sérum sanguin. Il est difficile d'obtenir des cultures pures avec les crachats tuberculeux, à cause du grand nombre de Bactéries qu'ils contiennent, dont le développement plus rapide étoufferait rapidement la végétation lente du *Bacille de la tuberculose*. Il vaut mieux s'adresser à de la matière tuberculeuse, recueillie directement à l'autopsie et au mieux sur un cobaye inoculé sous la peau du ventre, qu'on sacrifie quinze jours ou trois semaines après l'inoculation. La prise de substance se fait dans le foie ou la rate, surtout s'ils sont riches en tubercules, en usant de toutes les précautions voulues pour s'opposer à l'introduction de germes étrangers. Enfin, Koch recommande comme condition essentielle de bien broyer cette matière tuberculeuse avant de l'ensemencer. On le fait facilement en la triturant dans un tube stérilisé, avec une forte baguette de verre.

D'après Kitasato (1), il est cependant possible d'obtenir des cultures directement avec les crachats en procédant de la façon suivante : On fait cracher le malade le matin, dans un verre ou récipient stérilisé. On prend, à l'aide d'un fil de platine stérilisé, des grumeaux jaunâtres qu'ils contiennent et on les lave au moins une dizaine de fois dans de l'eau stérilisée, en les agitant, pour les débarrasser le plus possible des microbes étrangers. On les dilacère ensuite dans un peu d'eau stérilisée et on étend de petites parcelles à la surface de sérum ou de gélose glycérinée. On peut ainsi observer le développement de colonies de *Bacille de la tuberculose*. Pastor (2) mêle intimement de petites quantités de crachats avec de la gélatine liquéfiée, coule en plaques et ensemence, après quelques jours, des parcelles de gélatine où aucune colonie ne s'est développée.

Cultures sur sérum. — En inoculant *en strie* sur du *sérum solidifié*, il apparaît à la surface, au bout de dix à quinze jours, de petites taches d'un blanc mat, sans éclat, qui se distinguent par là du substratum environnant. Ces taches ressemblent à de petites lames écailleuses sèches, lâchement accolées à la surface de la gelée. Il s'en forme parfois suffisamment pour couvrir la partie libre du milieu. Ces petites colonies sont surtout très nombreuses lorsque l'ensemencement a été fait avec du contenu de caverne riche en Bactéries. Elles peuvent même confluer entre elles et former une sorte de membrane. Ces masses possèdent une certaine consistance ; agitées dans du liquide, elles ne se dissocient pas, mais tombent au fond en bloc. De telles cultures se développent bien dans des petits godets de verre plats, recouverts d'un couvercle fermant bien. On dispose dans ces vases une couche de 1 à 2 centimètres de sérum et on le stérilise et le solidifie comme s'il s'agissait de tubes.

Les colonies sur sérum solidifié, vues à un grossissement de 80 dia-

(1) Kitasato, Gewinnung von Reinkulturen der Tuberkelbacillen und anderer pathogener Bakterien aus Sputum (*Zeitschr. für Hygiene*, XI, 1892).

(2) Pastor, Eine Methode zur Gewinnung von Reinkulturen der Tuberkelbacillen sdaum eSputum (*Centralbl. für Bakt.*, XI, 1892, p. 233).

mètres, présentent un aspect assez particulier et très caractéristique. Elles paraissent composées de petits amas linéaires, sinueux, élégamment courbés, dont les plus petits ont la forme d'un S ; les plus longs décrivent en serpentant de nombreux tours (fig. 219). La partie médiane

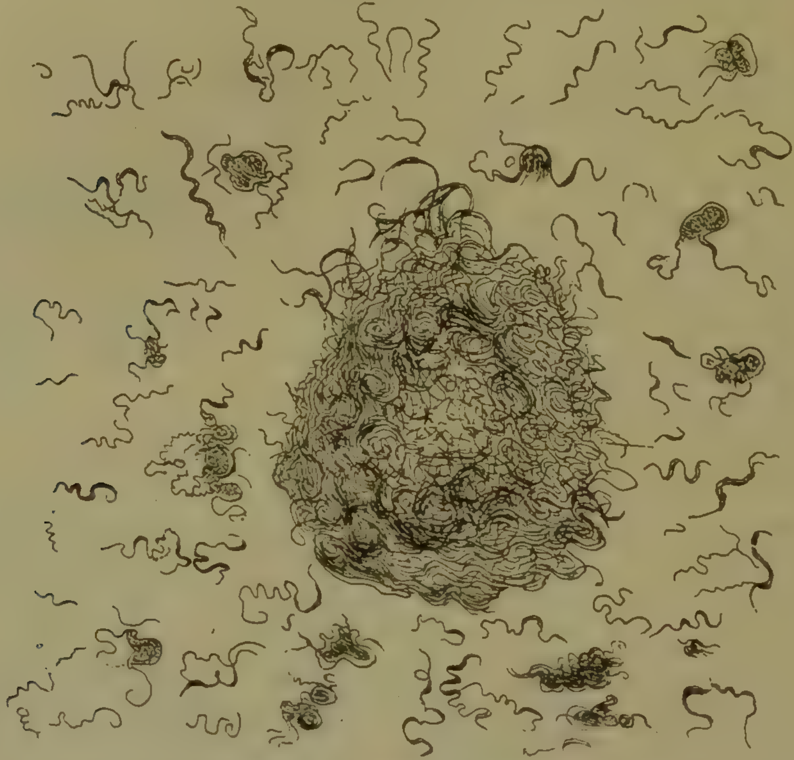


Fig. 219. — Aspect de la surface d'une culture de *Bacille de la tuberculose* sur sérum solidifié. 80/1 (d'après Koch).

de ces sortes d'arabesques est plus épaisse ; les extrémités sont appointées. Dans les parties épaisses de la culture, ces Zooglées linéaires sont tassées en grand nombre, enchevêtrées les unes dans les autres. Ces lignes sinueuses bizarres sont constituées par des Bacilles disposés en un ordre régulier et constant. Il est facile de s'en convaincre en faisant une de ces préparations microscopiques que nous avons désignées sous le nom de *préparation par impression* (p. 307). Une lamelle très propre est appliquée à la surface d'une culture et maintenue peu de temps légèrement appuyée ; elle est retirée rapidement et verticalement avec des pinces fines de façon à ne pas frotter la colonie. De cette manière, les Bactéries superficielles s'accolent à la lamelle en gardant leurs rapports respectifs. Cette lamelle est fixée et colorée par les procédés ordinaires. On obtient alors l'aspect représenté figure 220. Chacune des lignes sinueuses de la colonie se montre formée de Bacilles accolés dans leur longueur et dirigés suivant le grand axe de la Zooglée ; le nombre des bâtonnets accolés est plus ou moins grand en un endroit donné, selon la largeur de la colonie en ce même endroit. Koch pense qu'il existe une sorte de gelée fondamentale qui retient les différents articles dans un ordre si régulier. Mais ce n'est pas seulement dans les cultures qu'on est à même d'observer cette disposition toute spéciale ; elle se montre dans l'organisme aussi nette, dans tous les cas où le développement des

Bacilles n'est pas gêné. La figure 220 représente l'aspect d'une préparation par impression d'un gros amas tuberculeux du foie d'un cobaye, en tout semblable à celui obtenu avec les cultures sur sérum.

D'après Ledoux-Lebard (1), l'élément qui va donner une colonie se développerait par ramification en Y ou en X; les fragments se séparent assez vite, mais restent accolés en faisceaux par une substance unissante provenant de l'enveloppe externe.



Fig. 220. — Préparation par impression de *Bacille tuberculeux*. 700/1 (d'après Koch).

Koch a réussi à cultiver cette même espèce sur le *sérum liquide* stérilisé; il s'y développe à la surface une mince membrane blanchâtre, sèche, très fragile, qui se brise à la moindre agitation et se dépose au fond du vase; le liquide reste indéfiniment limpide.

Le sérum solidifié est encore aujourd'hui le seul milieu qui permette d'isoler assez facilement le *Bacille de la tuberculose* directement des produits tuberculeux du cobaye. D'après Straus et Gamaléia (2), il est préférable d'employer du sérum peptonisé et sucré. A partir de la quatrième ou cinquième génération sur ce milieu, les cultures deviennent plus faciles et plus abondantes; il s'est produit une sorte d'acclimatement aux milieux artificiels; on peut alors obtenir des cultures sur d'autres milieux, où l'espèce n'aurait rien donné si on l'y avait ensemencée d'emblée.

Cultures sur milieux glycérinés. — Nocard et Roux (3) ont facilité de beaucoup l'obtention des cultures du Bacille de la tuberculose en conseillant d'ajouter à différents milieux des proportions assez fortes de glycérine, 5 à 8 p. 100. La végétation y est beaucoup plus abondante que sur les milieux ordinaires, lorsqu'on les ensemence avec un Bacille qui s'est déjà acclimaté sur sérum. La plupart du temps même, le *Bacille*

(1) Ledoux-Lebard, Structure des colonies du Bacille tuberculeux (*Arch. de méd. expér.*, mai 1898).

(2) Straus et Gamaléia, Recherches expérimentales sur la T. (*Arch. de méd. expér.*, III, 1891, p. 457).

(3) Nocard et Roux, Sur la culture du Bacille de la T. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 19).

de la tuberculose humaine, au lieu de donner des cultures ternes, sèches, mates, qu'il forme sur sérum et autres milieux ordinaires, donne des cultures abondantes, plissées, molles, que l'on considérait comme spéciales au *Bacille de la tuberculose aviaire*.

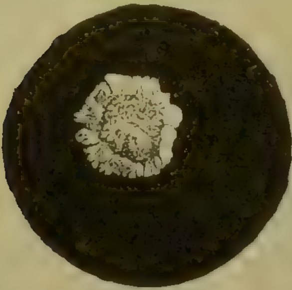


Fig. 221. — Culture en piqûre sur gélose du *Bacillus tuberculosis*. Gr. nat. (d'après Nocard et Roux).

La *gélose glycérinée* (p. 191) est le milieu qui paraît le mieux convenir. En *strie*, la surface du tube se couvre d'une nappe blanchâtre, épaisse, molle et plissée au centre, plus mince et un peu sèche aux bords. La culture n'est bien développée qu'après quinze jours ou trois semaines; elle prend avec l'âge une teinte ocracée, parfois même rosée. En *piqûre*, le développement ne se fait pas dans la profondeur de la piqûre, mais seulement à la surface; il se forme une culture épaisse, saillante, mamelonnée, à bords sinueux, d'abord blanche puis jaunâtre (fig. 221). Il est à recommander de mettre le plus possible la matière d'inoculation en contact avec la gelée, en traçant un sillon avec l'aiguille et la dissociant dans ce sillon; les cultures se développent plus vite et sont plus abondantes. Ces cultures, toutes celles sur milieux glycérinés d'ailleurs, dégagent une odeur de pomme rainette très agréable.

Le *Bacille de la tuberculose aviaire* pousse avec les mêmes caractères, un peu plus abondamment encore, sur la gélose glycérinée ; sa culture y est plus épaisse et plus molle ; ce n'est là qu'une différence de degré.

Bezançon et Griffon (1) recommandent la *gélose glycérinée au sang* qu'on obtient en ajoutant, à la gélose glycérinée fondue dans les tubes, une petite quantité de sang aseptique, au sortir du vaisseau de l'animal. On fait le mélange en évitant de secouer le tube. La culture serait plus facile à obtenir et plus abondante.

Sur *sérum glycériné*, la culture est plus précoce ; elle peut apparaître dès le quatrième jour. En quinze ou vingt jours, elle forme une masse blanche, épaisse, plissée ou mamelonnée.

Sur *pomme de terre*, les *Bacilles tuberculeux*, provenant de cultures acclimatées sur gélose glycérinée, végètent très bien. Pawlowsky (2) a obtenu le premier de telles cultures. Il recommande d'ensemencer la surface en la frottant avec une spatule de platine, pour faire pénétrer la matière d'inoculation dans la substance du substratum. En plaçant les tubes à l'étuve vers 38°, on aperçoit vers le douzième jour sur la surface ensemencée de petites taches grisâtres, ternes, sèches, qui sont des colonies de *Bacille de la tuberculose*. Vers le vingtième jour, toute la surface ensemencée est recouverte d'un enduit blanchâtre, sec, qui se laisse facilement enlever par raclage ; la culture s'épaissit encore avec l'âge.

On peut obtenir des cultures faciles et abondantes en se servant, d'après le conseil de Nocard, de *pommes de terre glycérinées*. On les prépare en laissant macérer pendant quarante-huit heures les morceaux de pommes de terre pelées dans de l'eau additionnée de 15 p. 100 de

(1) Bezançon et Griffon, Culture du Bacille tuberculeux sur le sang emprisonné dans la gélose glycérinée (*Soc. de Biol.*, 4 février 1899).

(2) Pawlowsky, Culture des Bacilles de la T. sur la pomme de terre (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, II, 1888, p. 303).

glycérine ; après ce temps, les morceaux sont placés dans les tubes et le tout est mis à l'autoclave à 115° pendant vingt minutes. Il est bon de mettre au fond des tubes une petite quantité du liquide glycériné. Les cultures commencent à être bien visibles une dizaine de jours après l'ensemencement. Au bout de vingt à trente jours, la culture est souvent épaisse, plissée, molle, un peu jaunâtre. Elle a souvent gagné le liquide qui est au fond du vase et s'étale alors à sa surface en formant un voile sec, blanc, qui grimpe la plupart du temps aux parois.

Les cultures du *Bacille de la tuberculose aviaire* sur pomme de terre ne peuvent en rien différer de celles de la tuberculose humaine du dernier type.

Sur *bouillon glycériné*, il est facile d'obtenir des cultures; c'est un milieu particulièrement précieux pour l'étude des produits solubles formés par le Bacille. La culture s'y fait le plus ordinairement en voile, beaucoup plus rarement en un sédiment floconneux, léger. Le liquide reste toujours clair. Il est à recommander d'ensemencer ces cultures avec des parcelles qu'on laisse flotter à la surface du liquide. La matière d'ensemencement la plus favorable est un morceau de ce voile fragile qui se produit dans les cultures sur pomme de terre, sur le liquide du fond du tube ; avec les débris d'un tel voile, la réussite est beaucoup plus certaine. Au bout d'une dizaine de jours, on aperçoit aux bords de la parcelle ensemencée une auréole blanchâtre, cireuse, presque transparente. L'auréole s'étend assez vite et finit par former un mince voile sec et fragile qui recouvre toute la surface du bouillon. Le voile s'épaissit, se plisse, devient mou, ou au contraire reste sec, scarieux, se brise facilement ; ce voile grimpe souvent sur une hauteur d'un centimètre aux parois du vase.

D'après Martin (1), les bouillons fabriqués avec la chair de divers poissons, tout particulièrement avec le hareng, forment un très bon milieu de culture. La chair du poisson, dilacérée dans un appareil à hacher, est additionnée d'une fois et demie son poids d'eau et portée à l'ébullition pendant trois quarts d'heure. On filtre bouillant jusqu'à ce que le liquide soit limpide. Le bouillon est souvent neutre ; dans le cas contraire, il faut l'alcaliniser légèrement. On ajoute 6 p. 100 de glycérine. On peut s'en servir pour préparer la gélose ou la gélatine.

Les cultures obtenues sur ces différents milieux donnent des colonies compactes. Sur les milieux liquides, en particulier, ce sont des voiles d'aspect variable, qui comprennent et réunissent tous les éléments provenant de la végétation ; aucun ne reste en suspension dans le liquide. Pour pouvoir étudier sur ce microbe le phénomène de l'agglutination, Arloing (2) a cherché à obtenir des cultures formant une émulsion homogène de microbes dans le liquide employé. Il y est parvenu en partant de cultures sur pomme de terre, fortement imprégnée d'un excès d'eau glycérinée. De telles cultures, ensemencées dans du bouillon, donnent souvent de véritables cultures homogènes, peuplées de bâtonnets réellement mobiles, présentant les réactions colorantes habituelles.

(1) Martin, Sur la culture du Bacille de la T. (*Arch. de méd. expér.*, Paris, I, 1889, p. 77).

(2) Arloing, Obtention de cultures et d'émulsions homogènes du Bacille de la T. humaine en milieu liquide et variété mobile de ce Bacille (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 9 mai 1898).

D'après Carnot (1), l'addition d'une petite quantité de tuberculine aux milieux de culture hâte beaucoup le développement initial du microbe. Le passage de l'animal aux milieux artificiels est également facilité. Une forte quantité de ce produit est au contraire défavorable.

Les Bacilles des cultures sont plus courts que ceux que l'on trouve d'ordinaire dans les crachats et les produits tuberculeux de l'homme et des animaux ; certains même sont à peine plus longs que larges. Ils présentent les mêmes particularités et principalement se comportent comme eux à l'égard des méthodes de coloration.

Le Bacille de la tuberculose ne se cultive pas dans le *lait*, même à sa température optima ; il y reste cependant virulent pendant plusieurs mois (2).

Propriétés biologiques.

Vitalité et virulence. — Toutes ces cultures sont virulentes ; Koch a obtenu par leur inoculation des résultats identiques à ceux que donnent les produits tuberculeux ; Nocard et Roux, et à leur suite de très nombreux expérimentateurs, ont constaté les mêmes faits. L'inoculation sous-cutanée à un cobaye sain d'une parcelle de produit de culture pure de Bacille de la tuberculose se fait facilement en pratiquant à la peau de l'abdomen une petite boutonnière qu'on agrandit avec une sonde mousse stérilisée. La plaie paraît se guérir vite ; mais, du dixième au quatorzième jour, il s'y forme une petite induration qui s'ulcère tout en n'ayant pas de tendance à grandir. L'animal meurt nettement tuberculeux au bout de trois semaines ou un mois d'ordinaire. La virulence ne semble s'atténuer par aucun des moyens employés à cet effet. L'inoculation sous la peau, dans la cavité abdominale, dans la chambre antérieure de l'œil de cobayes ou de lapins détermine, en peu de temps, une tuberculose typique, avec généralisation dans les principaux organes. L'atténuation ne se fait pas mieux par passages successifs dans l'organisme animal ; on peut établir des séries très nombreuses d'inoculations provenant l'une de l'autre, sans voir diminuer en rien l'intensité de la maladie. Ces cultures sur gélose glycérinée perdent cependant de leur virulence avec le temps ; elles peuvent être inoffensives après quelques mois ou ne produire qu'une simple lésion locale.

Bataillon et Terre (3) disent avoir obtenu une véritable race saprophytique de *Bacille tuberculeux* en faisant passer du bacille virulent, de tuberculose humaine ou aviaire, par l'organisme d'animaux à sang froid, poissons ou grenouilles.

Cette persistance de la virulence se retrouve du reste à un haut degré dans les produits tuberculeux pris dans l'organisme, provenant d'une tuberculose spontanée. Elle est liée peut-être à la présence, encore problématique, de spores dans la Bactérie spécifique. Les crachats tuberculeux, en particulier, peuvent rester actifs des mois entiers, s'ils sont desséchés d'une façon lente et graduelle. Les expériences récentes de

(1) Carnot, Effets de l'addition de tuberculine aux cultures de Bacilles de Koch (*Soc. de Biol.*, 16 juillet 1898).

(2) Sabrazès, Vitalité du Bacille de Koch incorporé au lait de vache (*Acad. de méd.*, 26 avril 1898).

(3) Bataillon et Terre, La forme saprophytique de la T. humaine et de la T. aviaire (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1897, p. 1399).

Galtier (1) ne laissent aucun doute à cet égard. De la matière tuberculeuse chauffée pendant vingt minutes à 60° et dix minutes à 71°, ou parfaitement desséchée à une température de 30° environ, a pu infecter des cobayes tout aussi rapidement que des produits frais. Des morceaux de tissus tuberculeux laissés à macérer et putréfier dans l'eau à la température ordinaire, pendant un laps de temps variant de cinq à vingt jours, d'autres soumis à des congélations de — 5° ou — 8°, suivies de dégels successifs, ont pu produire une véritable tuberculose, parfaitement transmissible en séries. Ces conclusions contredisent absolument l'opinion émise par Baumgarten (2), qui prétend que la putréfaction atténue le virus tuberculeux, dont l'activité s'affaiblit au bout de quelques jours, puis disparaît complètement. Le développement d'autres espèces peut cependant entraver celui du *Bacille tuberculeux*, qui cède le pas à certaines dont l'action se substitue à la sienne ou plutôt la devance. En inoculant à des lapins de la matière tuberculeuse putréfiée, G. Daremberg (3) a produit une septicémie et aucun accident tuberculeux (Voy. p. 420). C'est cette remarque qui a conduit différents expérimentateurs à essayer d'arrêter le développement du *Bacille tuberculeux* en provoquant au lieu attaqué, le poumon surtout, la pullulation d'espèces saprophytes, tout à fait inoffensives pour l'organisme. Les résultats de cette méthode sont loin d'être concluants.

La virulence des produits tuberculeux ou des cultures que l'on a obtenu d'eux est cependant loin d'être toujours identique. Elle peut varier dans des limites assez larges, et s'apprécie alors d'après les effets observés à la suite d'inoculation au cobaye ou au lapin (4). D'après Auclair (5), toutefois, les affaiblissements qui peuvent s'observer avec la tuberculose humaine de provenance diverse ne seraient que momentanés ; il serait toujours possible de revenir à une virulence ordinaire en faisant passer le virus par un cobaye et en faisant des cultures avec ses organes.

Maffucci (6) a étudié l'influence de la dessiccation. Elle paraît assez peu marquée et en tout cas ne se fait sentir qu'après plusieurs mois. Le *Bacille de la tuberculose* est assez sensible à l'action de la chaleur.

D'après les recherches de Yersin (7), Grancher et Ledoux-Lebard (8), la virulence du Bacille diminue lorsqu'il a été chauffé à 60° pendant cinq minutes ; une température de 70° pendant le même laps de temps détruit

(1) Galtier, Danger des matières tuberculeuses qui ont subi le chauffage, la dessiccation, le contact de l'eau, la salaison, la congélation et la putréfaction (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1887).

(2) Baumgarten, Ueber die Uebertragbarkheit der T. durch die Naehrung und über Abschwaechung der pathogene Wirkung der Tuberculosebacillen durch Fäulniss (*Centralbl. für klin. Med.*, 1884, n° 22).

(3) G. Daremberg, Note sur une septicémie du lapin (*Soc. de Biol.*, 1886, p. 457).

(4) Vagedes, Experimentelle Prüfung der Virulenz der Tuberkelbacillen (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVIII, 1898, p. 276). — Kimla, Poupé et Vesely, Contribution à la biologie et la morphologie du Bacille de la T. (*Congrès de Moscou*, 1898, et *Revue de la T.*, 1898, p. 25).

(5) Auclair, Virulence des Bacilles tuberculeux humains de sources diverses (*Arch. de méd. expér.*, 1897, p. 1124).

(6) Maffucci, Die Hühnertuberculose (*Zeitschr. für Hygiene*, II, 1892, p. 461).

(7) Yersin, De l'action de quelques antiseptiques et de la chaleur sur le Bacille de la T. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, II, 1888, p. 60).

(8) Grancher et Ledoux-Lebard, Action de la chaleur sur la fertilité et la virulence du Bacille tuberculeux (*Arch. de méd. expér.*, 1892, p. 1)

toute virulence et toute vitalité. En desséchant au préalable des cultures à une douce chaleur, elles résistent beaucoup plus ; elles conservent leur virulence de deux à sept heures à 70° ; soumises à une chaleur sèche de 100° pendant une, deux et trois heures, leur virulence s'affaiblit graduellement, mais sans disparaître entièrement.

Forster (1) a observé que dans la vapeur d'eau la mort survenait à 60° entre quarante-cinq et soixante minutes, à 70° de cinq à dix minutes ; dans le lait, à 55° après quatre heures, à 60° en une heure, à 65° en quinze minutes, à 70° en dix minutes, à 80° en cinq minutes, à 90° en deux minutes, à 95° en une minute. Une température de 50°, maintenue pendant douze heures, ne lui a montré aucun effet.

Koch avait déjà annoncé que l'action directe de la lumière solaire pouvait rapidement tuer le *Bacille de la tuberculose*. Migneco (2), en expérimentant sur des produits tuberculeux, a confirmé et étendu ces résultats. Il a observé que l'insolation ne modifie pas la virulence du Bacille quand elle ne se prolonge pas au-dessus de deux heures; au bout de trois heures d'insolation, la virulence est atténuée et cette atténuation augmente avec la durée de l'exposition aux rayons du soleil. La disparition de la virulence n'a pas été observée, même après un long temps d'insolation (quarante-cinq heures).

Le suc gastrique a peu d'action sur la vitalité et la virulence du *Bacille tuberculeux*. Les recherches de Straus et Wurtz, de Sabrazès (3), démontrent qu'il ne perd ces propriétés qu'après un contact de trente-six heures.

Action des antiseptiques. — Yersin a étudié l'action des antiseptiques sur les Bacilles des cultures, mais seulement en éprouvant leur vitalité par ensemencement sur milieu favorable, méthode inférieure certainement à l'inoculation au cobaye. Le tableau suivant résume les résultats qu'il a obtenus :

ANTISEPTIQUES.	TITRE des SOLUTIONS.	DURÉE DE CONTACT par laquelle tous les germes ne sont pas tués.	DURÉE DE CONTACT suffisante pour tuer tous les germes.
Acide phénique	50 pour 1000	»	30 secondes
—	10 —	»	1 minute
Alcool absolu	»	»	5 minutes
Ether iodoformé	10 pour 1000	»	5 —
Ether	»	5 minutes	10 —
Bichlorure de mercure	1 pour 1000	5 —	10 —
Thymol	3 —	2 heures	2 heures
Eau saturée de créosote	»	1 heure	»
Eau saturée de naphtol	»	1 —	»
Acide salicylique	25 pour 1000	1 —	6 heures
Acide borique	40 —	12 heures	»

En somme, la résistance aux antiseptiques paraît assez faible.

(1) Forster, Ueber die Einwirkung von Lohen Temperaturen auf Tuberkelbacillen (*Hygiene Rundschau*, II, 1892, p. 869 ; III, 1893, p. 669).

(2) Migneco, Azione della luce solare sulla virulenza del bacillo tuberculare (*Ann. d'Igiene sperim.*, V, 1895, p. 215).

(3) Sabrazès, Action du suc gastrique sur les propriétés morphologiques et sur la virulence du Bacille de Koch (*Soc. de Biol.*, 11 juin 1898).

Produits formés dans les cultures. — Les différentes cultures, mais celles dans les bouillons principalement, renferment des produits solubles divers, dont l'action, d'un très haut intérêt, a été mise en lumière d'abord par de belles recherches de Koch (1) et depuis approfondie par de nombreux expérimentateurs.

Le *Bacille tuberculeux* ne produit jamais d'indol dans les milieux peptonisés.

On n'a malheureusement que peu de données sur la composition chimique des Bacilles eux-mêmes.

Schweinitz et Dorset (2) donnent, pour les cendres, la composition minérale suivante :

Soude	13,62 p. 100.	Acide carbonique et silice	0,57 p. 100.
Potasse	6,35 —	Acide phosphorique	55,23 —
Chaux	12,64 —		
Magnésie	11,55 —		

On remarquera de suite la forte proportion d'acide phosphorique et l'absence d'autres radicaux acides.

D'après Hammerschlag (3), les Bacilles lavés et séchés abandonnent 27 p. 100 de leur poids à un mélange d'alcool et d'éther. L'extrait obtenu par évaporation est formé de graisse et de lécithine ; il ne contient pas de cholestérine ; il renferme en plus une substance toxique qui, inoculée aux cobayes et aux lapins, détermine des accidents convulsifs et les fait périr. Le résidu laissé par le traitement à l'alcool éthéré, traité par une solution de potasse à 1 p. 100, abandonne une matière albuminoïde. Il reste probablement de la cellulose ; le tout se dissout en effet dans l'acide sulfurique concentré en donnant une solution qui réduit la liqueur de Fehling. D'après Aronson (4), la matière grasse serait une véritable cire.

Weyl (5), en traitant du produit de cultures sur gélose glycérinée par une lessive de soude faible, à chaud, obtient un liquide gélatineux laissant séparer par refroidissement des flocons blancs qui ne se dissolvent que dans l'acide sulfurique concentré. Cette substance se colore aux couleurs d'aniline et résiste à la décoloration par les acides. C'est à elle, sans doute, que le *Bacille de la tuberculose* doit sa réaction colorante caractéristique, qu'il conserve encore même longtemps après sa mort, comme l'ont démontré Prudden et Hodenpyl (6), Straus et Gamaléia (7). La couche gélatineuse qui surmonte le dépôt floconneux, traitée par l'acide acétique, donne un précipité brunâtre qui, mis en solution dans une lessive de soude à 2 p. 1000 et injectée sous la peau

(1) Koch, *Deutsche med. Wochenschr.*, 13 novembre 1890.

(2) Schweinitz et Dorset, The mineral constituents of the tubercle bacilli (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 993).

(3) Hammerschlag, Bakteriologische chemische Untersuchungen über Tuberkelbacillen (*Centralbl. für klin. Med.*, 1891, p. 1).

(4) Aronson, Zur Biologie der Tuberkelbacillen (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1898, n° 22).

(5) Weyl, Zur Chemie und Toxicologie des Tuberkelbacillus (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1891, p. 256).

(6) Prudden et Hodenpyl, Studies on the action of dead Bacteria in the living body (*New York med. Journ.*, 6 et 20 juin 1891).

(7) Straus et Gamaléia, *loc. cit.*, p. 523.

de cobayes, provoque un processus de nécrose au point d'inoculation. Weyl pense que cette substance active est une *toxomucine*.

Les recherches d'Auclair (1) démontrent la grande complexité des produits toxiques sécrétés par le Bacille tuberculeux humain. Parmi ces produits toxiques, les uns diffusent dans le milieu, les autres restent unis aux microbes.

La distillation des bouillons de culture donne des produits d'autant plus toxiques qu'elle est faite à plus haute température. Ces produits distillés élèvent la température chez le cobaye sain et plus chez le cobaye tuberculeux ; ils ont un pouvoir irritant local très marqué et vont jusqu'à produire une ulcération au point d'inoculation ; leur action curative ou préventive est nulle.

L'éther, le xylol, la benzine, le chloroforme extraient des corps bactériens tués à 115° une matière grasse jaunâtre, onctueuse, brûlant avec crépitation dans la flamme, complètement insoluble dans l'eau et se colorant fortement par la méthode d'Ehrlich. Cette substance grasse est nettement toxique ; en injection sous-cutanée chez le cobaye, à la dose de quelques milligrammes, elle produit des abcès caséeux typiques; lorsque la dose est un peu forte, 10 à 20 centigrammes, l'animal, au bout de six semaines à deux mois, maigrit, se cachectise et meurt. De l'extrait éthéré se dégage un corps volatil dont l'inhalation détermine des symptômes généraux se rapprochant par plusieurs points de ceux observés à la suite de l'inoculation de la tuberculine de Koch ; il faut prendre de sérieuses précautions pendant la manipulation. Les corps bactériens privés de ces substances grasses par les réactifs sont plus minces que les Bacilles normaux et se présentent souvent sous la forme de chaînettes de coccus. Le chauffage à 115° ne modifie en rien les qualités de ces extraits ; il en augmente plutôt la proportion.

L'ammoniaque extrait une matière solide, peu ou pas odorante, soluble dans l'eau, ne présentant pas l'aspect gras des produits précédents. Cette substance, inoculée au cobaye, n'a aucune action locale, mais détermine, à doses suffisantes, une cachexie assez rapidement mortelle.

Ces diverses substances toxiques, avec leurs effets différents, rendent compte de la plupart des phénomènes provoqués par le *Bacille tuberculeux*, formation de pus caséeux, amaigrissement, cachexie et mort. La tuberculose apparaît nettement comme une intoxication par les produits sécrétés par le *Bacille tuberculeux*. Aucune de ces substances n'a montré d'effet curatif ou préventif.

Les *Bacilles tuberculeux* morts contiennent encore des substances actives. Koch avait constaté que des cultures tuées par la chaleur, par l'ébullition dans l'eau, par l'action d'antiseptiques sûrs, provoquaient de la suppuration locale quand on les inoculait à doses assez fortes sous la peau de cobayes sains. Il avait remarqué, en même temps, que chez des cobayes manifestement tuberculeux, l'inocula-

(1) Auclair, Étude expér. sur les poisons du Bacille t. humain. Essais de vaccination et de traitement. Thèse de Paris, 1897, et *Arch. de méd. expér.*, 1898. — *Id.*, Les poisons du Bacille t. humain ; la dégénérescence caséeuse (*Revue de la T.*, VI, 1898, p. 97). — *Id.*, Les poisons du Bacille t. humain ; recherches sur la pneumonie t. (*Arch. de méd. expér.*, 1899).

tion sous-cutanée de doses faibles de ces mêmes cultures amenait la mort de six à quarante-huit heures ; avec des doses excessivement minimes, la mort ne survient pas, il ne se produit qu'une lésion locale et l'état général semble s'améliorer. C'est cette dernière observation qui l'a conduit à préparer sa tuberculine et à l'appliquer au traitement de la tuberculose. Maffucci (1) avait aussi constaté cette action toxique des cultures stérilisées ou mortes, et avait remarqué que leur inoculation ne produisait pas seulement des effets nécrotiques locaux, mais encore des phénomènes généraux de cachexie qui amenaient la mort de l'animal à une échéance plus ou moins éloignée suivant la dose de culture employée. Les expériences de Prudden et de Hodenpyl, Straus et Gamaléia (2) prouvent avec toute évidence que les *Bacilles tuberculeux* morts conservent une grande partie des propriétés pathogènes caractéristiques des microbes vivants. En injection sous-cutanée, ils déterminent de la suppuration, avec ou sans phénomènes de cachexie ; en injection intraveineuse ou intrapéritonéale, ils provoquent, comme les Bacilles vivants, la formation de véritables tubercules dans les organes où ils sont transportés. L'examen microscopique de ces lésions, pus ou tubercule, y démontre la présence de Bacilles spéciaux, colorables, mais morts. La seule différence avec les Bacilles vivants est que les Bacilles morts ne déterminent de lésions qu'aux endroits où ils ont été déposés ou transportés par la circulation ; les lésions ne se généralisent pas.

L'alcool extrait à froid environ 8 p. 100 du poids de la masse bacillaire. Le liquide prend vite une coloration rouge, due à l'oxydation d'une substance chromogène qui s'y trouve. L'extrait, de consistance molle, est formé en grande partie d'acides gras.

Les matières grasses ou acides gras doivent simplement servir de substratum aux véritables principes actifs.

En somme, les substances actives contenues dans les corps bacillaires sont encore peu connues. A côté de celles dont il vient d'être question, on signale également des substances albuminoïdes toxiques, qui diffusent plus aisément dans le milieu ambiant et se retrouvent alors plus facilement dans les liquides de cultures et particulièrement dans les produits connus sous le nom de tuberculine, dont il va être parlé (3). Prudden et Hodenpyl attribuent, en partie au moins, les lésions produites à une protéine spéciale qui ne diffuse que très lentement des éléments bacillaires vivants ou morts. Certaines de ces matières albuminoïdes résistent à 100°, d'autres sont détruites même à une température inférieure.

Tuberculine. — Ces produits actifs sont contenus, partiellement au moins, dans la *tuberculine*.

On se souvient encore du retentissement considérable qu'a eu au Congrès de Berlin, en 1890, la communication de Koch sur l'action

(1) Maffucci, Ueber die Wirkung der reinen, sterilen Kulturen des Tuberkelbacillus (*Centralbl. für allg. Path.*, 1890, p. 825).

(2) Straus et Gamaléia, Contributions à l'étude du poison t. (*Arch. de méd. expér.*, III, 1891, p. 705).

(3) Ruppel, Zur Chemie der Tuberkelbacillen (*Zeitschr. für phys. Chemie*, XXVI, 1898, p. 218).

de la tuberculine sur le cobaye, provoquant une réaction importante sur l'animal tuberculeux et pouvant même y amener un arrêt de la tuberculose avancée, une guérison de la tuberculose du début. Les premiers résultats de l'application de cette *lymphe de Koch* au traitement de la tuberculose de l'homme (1) ont véritablement remué le monde. Il a fallu malheureusement en rabattre à ce point de vue curatif, aussi bien pour l'homme que pour l'animal. Malgré cela, la réaction produite sur l'organisme tuberculeux garde une importance considérable au point de vue du diagnostic.

Le mode de préparation de la tuberculine fut gardé secret au début. Pour quel motif? On ne le sait pas au juste, mais c'est un exemple d'autant plus regrettable qu'il venait d'une aussi haute autorité scientifique. Guidés par le développement de l'odeur spéciale aux milieux glycérinés, Budjwid (2), Roux et Metschnikoff parvinrent à préparer un produit identique à celui de Koch. Le mode de préparation mis en œuvre aujourd'hui est le suivant : Les cultures sont faites en bouillon glycériné à 6 p. 100; elles sont laissées six semaines à l'étuve à 37°; il s'est formé un beau voile à la surface. Ces cultures sont stérilisées à l'autoclave à 110°, puis concentrées au bain-marie jusqu'à réduction au dixième. On filtre et l'on conserve en vase clos, à l'abri de la lumière. La forte proportion de glycérine assure la bonne conservation.

Ainsi préparée, la tuberculine est un liquide brunâtre, sirupeux, dégageant une faible odeur de pommes rainettes.

On a fait jusqu'ici de nombreuses recherches pour extraire le principe actif de la tuberculine sans parvenir à de bons résultats. Koch, en la précipitant par l'alcool à 60 p. 100, obtient un précipité blanc floconneux, soluble dans l'eau et la glycérine, quarante fois plus actif que la tuberculine brute; il le nomme *tuberculine purifiée*. C'est un produit de nature albuminoïde, mais il est complexe; d'après Kühne (3), il présente les réactions des albumoses et spécialement des deutéro-albumoses. Du reste, la matière albuminoïde peut n'être que le support du principe actif indéterminé qui n'existerait qu'en proportions excessivement minimes.

En tous cas, le principe actif, ou les principes actifs, de la tuberculine, ont des effets très curieux sur l'organisme. Introduite à doses minimes dans un organisme sain, la tuberculine n'y produit aucun trouble ou un trouble minime surtout caractérisé par l'hyperthermie; l'organisme tuberculeux, au contraire, réagit fortement.

Le cobaye sain supporte facilement, sans troubles, une injection sous-cutanée de 2 centimètres cubes de tuberculine; un demi-centimètre cube suffit pour faire périr en peu de temps, quelques heures, un cobaye tuberculeux. A l'autopsie, on trouve surtout de fortes lésions congestives autour des foyers tuberculeux des divers organes. D'après Maragliano (4), chez le cobaye sain, l'empoisonnement est foudroyant

(1) Koch, Weitere Mittheilungen über ein Heilmittel gegen T. (*Deutsche med. Wochenschr.*, 13 novembre 1890).

(2) Budjwid, La tuberculine; sa préparation, ses effets (*Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, I, 1891, p. 213).

(3) Kuhne, Erfahrungen über Albumosen und Peptone (*Zeitschr. für Biol.*, XXIX, 1892, p. 26, et XXX, 1893, p. 221).

(4) Maragliano, Sur l'empoisonnement par la tuberculine (*Soc. de Biol.*, 27 mars 1897).

avec 1gr,25 de tuberculine pour 100 grammes de poids du corps, lent avec 0gr,50.

Le lapin sain supporte bien une injection intraveineuse de 5 centimètres cubes de tuberculine; il présente pendant un ou deux jours une hyperthermie de 1° à 1°,5 et maigrit un peu, mais se remet vite. Un chien sain peut recevoir une dizaine de centimètres cubes sans autre inconvénient qu'un peu de fièvre; les bovidés sains résistent mieux encore, les volailles également. Si ces animaux sont en puissance de tuberculose, il se produit, même après injection de doses bien moindres, une réaction très forte, surtout une hyperthermie très marquée, atteignant souvent 41° et 42°; lorsque la dose injectée était forte, la mort survient assez rapidement.

L'homme, qui paraît un milieu moins favorable pour le *Bacille de la tuberculose* que le cobaye, est beaucoup plus sensible que lui aux produits formés par ce microbe. Chez l'homme adulte sain, un vingtième de centimètre cube provoque déjà des troubles sérieux, un quart de centimètre cube amène des troubles intenses, inquiétants. Straus fixe à 1 centième de centimètre cube la dose minima encore efficace chez l'homme sain; cette dose détermine un peu d'abattement et une très légère élévation de température, 38° ou très peu plus.

Chez l'homme tuberculeux adulte, cette dernière dose de 1 centième de centimètre cube détermine des troubles très marqués, une réaction générale et une réaction locale aux endroits où se trouvent des foyers tuberculeux. La réaction générale débute par un frisson, puis l'hyperthermie se produit, 39°, 40° et même 41°; on observe de l'abattement, des courbatures. L'accès commence ordinairement quatre ou cinq heures après l'injection et dure douze ou quinze heures; puis tout rentre dans l'ordre.

L'action locale de la tuberculine sur les lésions tuberculeuses est très remarquable. On peut facilement l'observer dans le cas de tuberculose externe ou de lupus. Il se produit au voisinage des lésions une inflammation intense, parfois même appréciable avant le frisson du début; on trouve aux alentours un exsudat très riche en leucocytes; le foyer tuberculeux peut ainsi être peu à peu isolé et se nécroser, être éliminé quand il s'agit de lupus, par exemple. Dans les lésions viscérales, cette élimination ne peut pas se faire. Cet effet ne peut se produire que sur les lésions tuberculeuses vivantes; il ne se produit pas sur les masses caséeuses ou le tissu tuberculeux mortifié. Il n'est pas prouvé non plus que les *Bacilles tuberculeux* existant dans les lésions soient influencés; d'où possibilité d'une généralisation dans le cas de désagrégation d'une lésion interne à la suite de l'action de la tuberculine.

Chez les adultes affaiblis, il faut employer une dose réduite; chez les enfants de trois à cinq ans, Koch conseille un millième de centimètre cube, et moitié de cette quantité chez les enfants très affaiblis.

On sait ce qu'est devenue la soi-disant puissance curative de la tuberculine et comment s'est évanouie la grande espérance qu'elle avait fait naître. Il reste cependant la constatation facile de la réaction qu'elle produit sur l'organisme tuberculeux. C'est, nous le verrons, un point de la plus haute importance pour le diagnostic de la tuberculose.

Koch (1) a plus récemment essayé et préconisé l'emploi d'autres produits complexes qu'il désigne également sous le nom de tuberculine.

Il obtient une *tuberculine alcaline* (TA) en traitant des Bacilles virulents par une solution de soude caustique à 1 p. 10. Les Bacilles sont intimement mélangés au réactif et laissés pendant trois jours à la température de la chambre en agitant fréquemment. Au bout de ce temps, tous sont morts ; l'expérience démontre que le *Bacille de la tuberculose* périt au bout de douze à quinze heures dans cette lessive de soude à 1 p. 10. Le liquide surnageant est filtré au papier, puis neutralisé. On obtient un liquide clair, légèrement jaunâtre, qui renferme encore pas mal de *Bacilles tuberculeux*, car, en faisant des préparations par les méthodes ordinaires, on en trouve souvent cinq ou six dans un champ de microscope. Ce liquide donne des réactions analogues à celles que produit la tuberculine ordinaire, mais ces réactions ont une durée un peu plus longue ; l'injection donne souvent lieu à des abcès à pus stérile, dus à la présence de *Bacilles tuberculeux* morts. En filtrant sur bougie d'alumine, on élimine tous les cadavres de Bacilles, mais le liquide obtenu n'est pas plus actif que la tuberculine ordinaire.

Koch eut alors l'idée de détruire mécaniquement les corps bacillaires pour arriver à obtenir une résorption complète du contenu par l'organisme et en particulier éliminer la couche formée d'acides gras qui semble protéger le microbe contre la résorption. Les cultures sont desséchées et broyées longtemps dans un mortier d'agate, jusqu'à ce que l'examen ne montre plus qu'une petite quantité de Bacilles intacts. Inutile de faire ressortir le danger extrême que peut faire courir une telle opération pour laquelle on prendra des précautions toutes spéciales.

La substance ainsi obtenue est diluée dans de l'eau distillée et soumise à la centrifugation à l'aide d'un appareil faisant 4000 tours à la minute, maintenue pendant une demi-heure à trois quarts d'heure. L'émulsion est alors divisée en deux couches distinctes : une supérieure blanchâtre et opalescente, mais tout à fait transparente et ne contenant plus de Bacilles ; l'autre inférieure boueuse, adhérente au vase. La couche supérieure est soutirée et mise à part ; la couche inférieure est desséchée, triturée à nouveau, puis soumise comme ci-dessus à la centrifugation ; elle donne de même une couche supérieure transparente, et un résidu épais, sur lequel on peut encore plusieurs fois renouveler l'opération. La masse presque entière de la culture peut ainsi être transformée en une série de couches liquides transparentes ; le résidu définitif peut être très minime.

Le liquide transparent obtenu à la suite de la première centrifugation se distingue essentiellement de ceux qui sont obtenus après les centrifugations suivantes, qui eux jouissent des mêmes propriétés.

Koch le désigne sous le nom de *tuberculine O* (TO), et sous le nom de *tuberculine R* (TR) celui provenant des autres opérations successives. TO ne se modifie pas par l'addition de 50 p. 100 de glycérine ; tandis que TR donne, dans les mêmes conditions, un précipité floconneux blanc. TR contient surtout les substances constitutives du Bacille qui sont

(1) Koch, Ueber neue Tuberkulinepräparate (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1897, n° 14, p. 209).

solubles dans la glycérine; tandis que TO renferme les substances solubles dans ce réactif. Les effets provoqués par ces deux liquides, chez les animaux et l'homme, sont aussi très différents.

TO, par son action, se rapproche beaucoup de la tuberculine ordinaire et correspond presque entièrement à la tuberculine alcaline TA, sauf que son inoculation ne donne jamais d'abcès. Mais les qualités immunisantes de TO sont peu marquées, tandis que celles de TR sont manifestes; TR contient toutes les substances immunisantes des cultures. En inoculant de très petites doses de TR à l'homme, de manière à éviter de produire une réaction, il est possible de l'immuniser contre TR; et alors le sujet ne réagit plus aux fortes doses de tuberculine ordinaire et de TO; il est donc immunisé à l'égard de tous les produits constitutifs du *Bacille tuberculeux*.

Pour que TR puisse produire son action intégrale, il faut absolument partir d'une culture bien virulente. Les cultures peu virulentes ne fournissent qu'un produit défectueux. Ces cultures ne doivent pas être trop vieilles; la dessiccation se fera dans le vide; il faut en général éviter toutes les causes de modification, la lumière en particulier.

Le liquide TR, tel qu'il est livré, contient 20 p. 100 de glycérine ajoutée dans un but de conservation, quantité insuffisante pour précipiter les substances actives. Il contient, par centimètre cube, 10 milligrammes de substance solide. Pour l'utiliser, on le dilue suffisamment avec de l'eau glycérinée à 20 p. 100. On commence par des doses très faibles, 1/500e de milligramme, avec une injection tous les deux jours en augmentant lentement la dose de façon à éviter autant que possible plus d'un demi-degré d'hyperthermie. Ce n'est guère que lorsqu'on arrive aux doses de 1/2 à 1 milligramme que l'on peut constater des effets immunisants. Koch dit arriver d'ordinaire, petit à petit, à des doses de 20 milligrammes sans produire d'accidents appréciables.

D'après lui, on obtiendrait chez tous les malades une amélioration considérable, bien plus notable qu'avec la tuberculine ordinaire, pouvant parfois être considérée comme une guérison.

Beaucoup de cliniciens, par contre, disent n'avoir obtenu aucun résultat avec TR ou seulement des améliorations minimes ou passagères.

Maragliano (1) prépare une *tuberculine aqueuse* en prenant la masse bacillaire d'une culture sur bouillon glycériné et en la faisant macérer pendant quarante-cinq heures, à une température de 95° à 100° au bain-marie, dans une quantité d'eau distillée égale au liquide de culture qu'a donné la filtration, en remplaçant l'eau au fur et à mesure que l'évaporation réduit le volume. Au bout de vingt-quatre heures de repos, on évapore au dixième au bain-marie. Ce liquide aurait les mêmes propriétés biologiques que la tuberculine ordinaire de Koch. La concentration au dixième tue d'habitude le cobaye sain dans la proportion de 1 centimètre cube pour 100 grammes de poids; 0cc,10 à 0cc,20 suffisent pour tuer le cobaye tuberculeux en quarante-huit heures. L'alcool précipite, de cette tuberculine aqueuse, une substance qui tue le cobaye à 1 p. 25000 et le lapin, par injection intraveineuse, à 1 p. 33000. C'est, comme toutes les autres tuberculines, un produit très complexe.

(1) Maragliano, Extrait aqueux des Bacilles de la T. (*Soc. de Biol.*, 22 janvier 1898).

Inoculation expérimentale.

La tuberculose peut être expérimentalement conférée, à l'aide de produits pathologiques ou de cultures virulentes, à un grand nombre d'animaux d'expériences. Les grands animaux domestiques, les singes, les chats, les lapins, les cobayes, les rats, les souris, bien des petits oiseaux, sont réceptifs à un haut degré; le chien, la chèvre, la poule sont plus résistants, sans cependant être réfractaires.

Le lapin et le cobaye sont particulièrement sensibles, ce dernier surtout, qui mérite d'être regardé comme le véritable animal réactif de la tuberculose. Aussi, lorsqu'un cobaye résiste à une inoculation bien faite, il est possible d'affirmer que la matière inoculée ne renfermait pas de *Bacilles tuberculeux*, vivants ou virulents au moins. Le lapin résiste souvent aux Bacilles atténués; avec les Bacilles virulents, il présente, au bout de deux mois, une tuberculose généralisée.

Inoculation au cobaye. — L'inoculation de produits tuberculeux virulents détermine fatalement, chez le cobaye, l'évolution d'une tuberculose qui amène la mort dans un délai variable de trois semaines à deux ou trois mois. La durée de l'affection dépend surtout de la virulence du microbe inoculé et du mode d'inoculation.

Inoculation sous-cutanée. — Le mode le plus simple et le plus fréquemment employé est l'*inoculation sous-cutanée*. Elle se fait soit en injectant, à l'aide d'une seringue, du produit dilué dans de l'eau, soit en faisant une boutonnière à la peau, boutonnière que l'on creuse avec une sonde cannelée, et y déposant une parcelle de la matière d'inoculation. La plaie se ferme très vite, puis du dixième au quatorzième jour il s'y forme une petite induration qui donne un petit ulcère torpide. Vers le dixième jour environ, on perçoit de l'induration des ganglions du lieu inoculé, ganglions inguinaux et cruraux si l'inoculation a été faite à leur patte postérieure. L'animal meurt de trois semaines à un mois d'ordinaire, quelquefois après un plus long temps, manifestement tuberculeux. En le sacrifiant de quinze jours à trois semaines, on lui trouve déjà le plus souvent des lésions tuberculeuses évidentes. Le foie et la rate surtout ont augmenté de volume et présentent un grand nombre de petites granulations tuberculeuses si l'affection est au début, des lésions plus grandes, confluentes, caséeuses même si la maladie a eu le temps d'évoluer. Les Bacilles caractéristiques se retrouvent en grand nombre dans les lésions.

Inoculation intrapéritonéale. — En *injection intrapéritonéale*, l'évolution est un peu plus rapide ; les lésions sont les mêmes.

Inoculation intraveineuse. — En *injection intraveineuse*, on obtient tantôt une tuberculose typique, tantôt une infection sans tubercules apparents, une infiltration tuberculeuse, le *type Yersin* de la tuberculose. C'est le mode d'inoculation qui réalise le plus sûrement l'infection générale de l'organisme. Lorsqu'il existe des tubercules, on peut en trouver dans tous les organes, en très grand nombre. La mort peut déjà survenir au quinzième jour.

Inoculation dans la chambre antérieure de l'œil. — L'*injection dans la chambre antérieure de l'œil* permet de suivre facilement l'évolution des lésions. Du quinzième au vingtième jour, l'iris se couvre de fines

granulations tuberculeuses ; puis l'œil se gonfle et se trouble, suppure même parfois ; en même temps, les ganglions du cou se prennent, l'animal succombe peu après avec des lésions pulmonaires intenses.

Inoculation par ingestion. — L'*ingestion* de produits tuberculeux est un moyen infidèle ; cependant, elle peut déterminer la tuberculose. De nombreuses expériences le prouvent.

Inoculation par inhalation. — L'*inhalation* de cultures mélangées à des liquides que l'on pulvérise a aussi permis de produire la tuberculose expérimentale chez les animaux.

Inoculation aux Oiseaux. — Quelle que soit la méthode d'inoculation employée, on ne réussit pas la plupart du temps à transmettre aux poules la tuberculose des Mammifères. H. Martin (1) a cependant observé que les poules inoculées, sacrifiées après un temps assez long, jusqu'à sept mois et demi après l'infection, bien que ne montrant aucune lésion tuberculeuse, avaient conservé des Bacilles tuberculeux virulents dans leur sang ; l'injection de ce sang rendait les cobayes tuberculeux. Nocard (2) est parvenu à occasionner des lésions tuberculeuses chez la poule, en lui inoculant, dans le péritoine ou dans les veines, des cultures de tuberculose des Mammifères ayant passé, pendant trois ou quatre générations, par le péritoine des poules au moyen du procédé des sacs de collodion. Auclair (3), en inoculant des pigeons dans le péritoine avec des cultures de tuberculose humaine, les a vus succomber sans lésions tuberculeuses apparentes, mais avec des Bacilles dans les organes et jamais dans le sang. Cadiot, Gilbert et Roger (4) obtiennent, chez la poule, des résultats positifs, très nets, avec formation de granulations tuberculeuses, en introduisant, après l'inoculation de cultures de tuberculose humaine dans la cavité abdominale, à plusieurs reprises, 14 à 15 centimètres cubes de sérum de cheval ; la mort survient en quelques mois.

Inoculation aux Vertébrés à sang froid. — La question est encore loin d'être résolue. Il semble cependant bien évident que les grenouilles, les tritons et certains poissons peuvent servir de terrain de culture au *Bacille de la tuberculose* et être infectés par lui. Mais les résultats obtenus ne sont pas concordants. Bataillon, Dubard et Terre (5) ont nourri des carpes avec des produits tuberculeux humains ; au bout de huit jours, ils retrouvaient des Bacilles dans le foie. La virulence de ces Bacilles était tellement atténuée qu'après onze jours l'inoculation au cobaye ne donnait plus aucun résultat. L'inoculation sous-cutanée, chez la grenouille, de tuberculose humaine ou aviaire, leur a donné le même résultat. Ils en concluent que le passage à travers l'organisme des animaux à sang froid transforme les Bacilles humain et aviaire en véri-

(1) H. Martin, Recherches ayant pour but de prouver qu'après un séjour variable dans un organisme réfractaire, les microbes tuberculeux peuvent conserver encore à des degrés divers leurs propriétés infectieuses (*Revue de la T.*, 1888, p. 362).

(2) Nocard, Sur les relations qui existent entre la T. humaine et la T. aviaire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1898, p. 561).

(3) Auclair, La T. humaine chez le pigeon (*Arch. de méd. expér.*, IX, 1897, p. 277).

(4) Cadiot, Gilbert et Roger, De la transmission aux Gallinacés de la T. des Mammifères (*Soc. de Biol.*, 19 novembre 1898).

(5) Bataillon, Dubard et Terre, La forme saprophytique de la T. humaine et de la T. aviaire (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1897, p. 1399).

tables saprophytes. Nicolas et Lesieur (1), après avoir fait ingérer pendant sept mois à des carpes et des cyprins dorés des crachats tuberculeux, n'ont rien pu retrouver dans les organes, à l'examen microscopique, mais ont donné la tuberculose au cobaye par l'inoculation des muscles et de l'intestin de ces poissons. Auché et Hobbs (2) ont obtenu des granulations tuberculeuses sur le foie et le mésentère de grenouilles inoculées dans le péritoine avec de la tuberculose humaine de vingt à soixante jours auparavant. Des cobayes inoculés avec ces granulations ont présenté une tuberculose généralisée typique ; mais la virulence semblait être moindre pour les produits ayant séjourné le plus longtemps chez la grenouille. Ces mêmes expérimentateurs ont constaté que les cultures de tuberculose humaine et aviaire, tuées par un chauffage de vingt minutes à 120°, déterminaient chez les grenouilles des lésions semblables à celles occasionnées chez ces animaux par les cultures vivantes, jusqu'au trente-troisième jour après l'inoculation ; on trouvait, sur la surface du foie et du mésentère, des granulations tuberculeuses à structure identique à celle des granulations de tuberculose vivante, avec de gros amas bacillaires au centre, conservant jusqu'au trente-troisième jour ou un peu plus leurs réactions colorantes. Plus tard, les Bacilles ne sont plus reconnaissables.

D'après Ramond et Ravaud (3), les grenouilles sont beaucoup plus sensibles au Bacille aviaire et à sa toxine qu'aux Bacilles de l'homme ou des poissons et à leurs produits.

L'homme paraît aussi pouvoir gagner la tuberculose expérimentale ; c'est ce qui semble résulter d'accidents arrivés à des expérimentateurs maniant le *Bacille tuberculeux*. C'est une raison suffisante pour recommander les plus grandes précautions et une extrême prudence quand on manie de tels produits.

La tuberculose expérimentale reproduit les lésions que l'on observe dans la tuberculose spontanée de l'homme ou des animaux. On y trouve le plus souvent les granulations tuberculeuses typiques ; d'autres fois, l'absence de lésions apparentes, l'infiltration des organes par les *Bacilles de la tuberculose*.

Dans tous les cas, le poumon est un véritable *locus minoris resistantiæ* pour la tuberculose ; c'est le plus souvent le premier et parfois le seul organe atteint.

La propagation se fait le plus souvent par la voie lymphatique, du point d'inoculation vers l'intérieur, dans l'inoculation sous-cutanée, intraséreuse, intra-oculaire, intestinale. Les ganglions de la région d'inoculation sont virulents en trois ou quatre jours. Elle peut se faire aussi par voie sanguine, comme le démontrent les résultats de l'inoculation intraveineuse ; elle est alors générale d'emblée.

D'après les recherches de Borrel (4), la cellule tuberculeuse est

(1) Nicolas et Lesieur, Effets de l'ingestion de crachats tuberculeux humains chez les Poissons (*Soc. de Biol.*, 7 octobre 1899).

(2) Auché et Hobbs, Virulence de la T. humaine après son passage à travers la grenouille (*Soc. de Biol.*, 8 janvier 1898). — *Id.*, Action de la T. morte injectée dans la cavité péritonéale des grenouilles (*Ibid.*, 30 octobre 1897).

(3) Ramond et Ravaud, Virulence du Bacille tuberculeux aviaire vis-à-vis des animaux à sang froid (*Soc. de Biol.*, 28 mai 1898).

(4) Borrel, T. pulmonaire expérimentale (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 593).

toujours une cellule lymphatique ; les cellules fixes de l'organe servent de simple support passif.

La rapidité plus ou moins grande avec laquelle l'infection expérimentale évolue dépend de plusieurs conditions, inhérentes à la fois aux individus pris comme terrains et à la qualité de la matière d'ensemencement. Elle dépend aussi, dans une large mesure, de la quantité de Bacilles introduits dans l'organisme. Il en est de même de la dilution des Bacilles ; plus ils se trouvent dilués dans un véhicule, plus l'infection évolue lentement, à quantités égales ou à peu près de microbes.

Tous les organes peuvent être atteints dans le cas de tuberculose expérimentale généralisée. Les organes génitaux mâles ou femelles le sont souvent ; c'est un point de grande importance pour la question si discutée de l'*hérédité de la tuberculose*.

Des faits expérimentaux en assez grand nombre démontrent que des femelles tuberculeuses peuvent donner des petits tuberculeux ; l'existence de la *tuberculose congénitale* expérimentale ne peut pas être niée ; elle concorde, du reste, avec des observations cliniques bien assurées faites sur l'homme ou les animaux domestiques.

D'après Landouzy et Martin (1), cette transmission au fœtus de la tuberculose devrait être considérée comme se produisant fréquemment. Les expériences répétées un grand nombre de fois par d'autres expérimentateurs, surtout par Nocard, Straus, Sanchez-Toledo (2), Gaertner (3), démontrent que cette transmission doit être tenue pour très rare, même tout à fait exceptionnelle. Ce qui peut être transmis plus probablement, c'est une prédisposition plus ou moins grande à l'infection, une résistance moindre à l'égard du virus.

Les expériences de Koubassoff (4) faisaient admettre le passage facile des Bacilles de la tuberculose à travers le placenta. Celles beaucoup mieux faites de Sanchez-Toledo prouvent que ce passage est possible, mais tout à fait exceptionnel. Comme le *Bacille de la tuberculose* ne se rencontre que très rarement dans le sang, il faut probablement des lésions placentaires pour que l'infection du fœtus se produise. Elles ont été, en effet, signalées dans plusieurs expériences.

La contagion du fœtus se fait par la veine ombilicale ; c'est ce qui explique pourquoi, dans cette tuberculose congénitale, le foie est particulièrement atteint, le poumon rarement.

La transmission de la tuberculose directement par le père est beaucoup plus problématique encore. Ici, c'est le sperme seul qu'on peut incriminer ; il faut admettre que le spermatozoïde fécondateur apporte à l'ovule un Bacille virulent. Les expériences très précises de Gärtner démontrent que le sperme d'un animal tuberculeux peut contenir des Bacilles, quoique exceptionnellement et en petit nombre. Malgré cela, toutes les expériences de fécondation de femelles saines par des mâles manifestement tuberculeux et à tuberculose testiculaire

(1) Landouzy et H. Martin, Faits pour servir à l'hérédité de la T. (*Revue de méd.*, 1883, p. 1014).

(2) Sanchez-Toledo, Rech. expér. sur la transmission de la T. de la mère au fœtus (*Arch. de méd. expér.*, 1889, p. 511).

(3) Gaertner, Ueber die Erblichkeit der T. (*Zeitschr. für Hygiene*, XIII, 1893, p. 101).

(4) Koubassoff, Passage des microbes pathogènes de la mère au fœtus (*C. R. de l'Acad. des sc.*, C, 1885, p. 172, et CI, p. 451).

bien nette, ont donné constamment des résultats négatifs relativement à l'infection de l'ovule par du sperme tuberculeux. Gärtner a pu cependant nettement constater que des femelles ayant reçu des mâles tuberculeux prenaient parfois la tuberculose; c'est la démonstration expérimentale de l'infection possible par la cohabitation, déjà admise en clinique.

En somme, tout plaide contre l'infection directe de l'ovule avant la conception ou au moment de la fécondation, très prônée, surtout par Baumgarten (1), et qui nécessite alors la conservation du virus à l'état de vie latente, de microbisme latent, dans l'organisme à ses débuts; la tuberculose congénitale, quand elle se produit, est toujours d'origine maternelle et provient d'une contamination directe du fœtus par le placenta présentant des lésions tuberculeuses.

Immunité et sérothérapie.

On a cherché de bien des manières, sans grand succès, semble-t-il jusqu'ici, à immuniser des animaux à l'égard du virus tuberculeux. Les nombreux essais tentés dans ces dernières années sont basés, les uns sur l'emploi de cultures vivantes, les autres sur l'emploi des produits solubles du microbe.

Les différentes tentatives de vaccination des animaux sensibles, tels que le lapin ou le cobaye, soit à l'aide de doses très minimes d'abord, puis progressivement croissantes de Bacilles tuberculeux, soit à l'aide de cultures à virulence affaiblie par le vieillissement, n'ont pas donné de résultats satisfaisants, tout au plus une légère augmentation de résistance au virus.

Divers expérimentateurs ont mieux réussi, en s'adressant à des animaux peu sensibles dans le but surtout d'obtenir un sérum immunisant ou curatif. Héricourt et Richet (2) ont produit les premiers une immunité relative chez le chien en se servant de tuberculose aviaire, puis ensuite, chez l'âne et le chien, en employant la tuberculose humaine. Mais, chez ces animaux, on peut penser que les expérimentateurs se sont aussi trouvés en présence de conditions de faible réceptivité que tous les individus de même espèce peuvent fort bien ne pas présenter.

Redon et Chenot (3) disent avoir pu augmenter la résistance au virus et même entraver la tuberculose chez des cobayes et des lapins, en leur injectant du sérum provenant d'ânes ou de mulets qui n'avaient eu aucune lésion, à la suite d'inoculation de tuberculose virulente.

L'emploi des produits solubles paraît donner de meilleurs résultats, sans cependant encore permettre de produire une immunité complète chez des animaux sensibles au virus.

Niemann (4) a produit une certaine immunité chez des chiens, chèvres, cobayes, rats blancs, hérissons, par l'emploi, à doses progressivement

(1) Baumgarten, Ueber die Wege der tuberkulosen Infection (*Zeitschr. für klin. Med.*, VI, 1883, p. 61). — *Id.*, Ueber experimentelle congenitale T. (*Arb. aus dem Inst. zu Tubingen*, I, 1892).

(2) Héricourt et Richet, De l'immunité conférée à des lapins par la transfusion péritonéale du sang de chien (*Études expér. et clin. sur la T. publiées par Verneuil*, II, 1890, p. 381 et 678). — *Id*, Transfusion du sang de chien pour obtenir l'immunité contre la T. (*Ibid.*, III, 1892, p. 139).

(3) Redon et Chenot, Sérothérapie dans la T. (*Soc. de Biol.*, 29 juin 1895).

(4) Niemann, Ueber Immunität gegen T. und T. Antitoxin (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 214).

croissantes, de la *tuberculine purifiée* obtenue comme Koch l'indique. Ces recherches ont eu surtout pour but l'obtention d'un sérum actif contre la tuberculose.

Les premières recherches de *sérothérapie antituberculeuse* sont dues, on le sait, à Héricourt et Richet (1), qui avaient observé une survie bien nette à l'inoculation tuberculeuse chez des cobayes auxquels ils injectaient, au préalable, du sérum d'un animal peu sensible à la tuberculose, l'âne ou le chien. Le sérum de tels animaux est malheureusement très peu actif; la quantité de produits antitoxiques qu'il contient est, en général, insuffisante pour produire des effets curatifs ou préventifs sérieux à dose ordinaire, quoique suffisante en sa totalité pour conférer à l'animal l'état réfractaire complet ou imparfait, suivant les circonstances. Les mêmes expérimentateurs ont, plus tard, cherché à obtenir un sérum plus actif en inoculant leurs animaux avec des produits virulents ou des produits solubles. Il est certain que les résultats qu'ils ont obtenus chez l'homme ou l'animal, quoique incomplets, sont à considérer.

Niemann, sur des animaux inoculés comme il a été dit plus haut, a obtenu un sérum donnant au cobaye une survie estimable. Auclair (2), expérimentant sur les poules, n'a pas obtenu de sérum jouissant de qualités antitoxiques appréciables.

Les résultats obtenus par Maragliano (3) sont beaucoup plus à considérer et peuvent faire penser que c'est dans la voie qu'il indique qu'il faut chercher la solution, partielle au moins, du problème. Il se sert, pour traiter les animaux qui doivent fournir le sérum, de divers produits solubles extraits des cultures : de la tuberculine d'abord qui, par suite de sa préparation par concentration des cultures à 100°, renfermerait surtout des protéines venant du corps des Bacilles ; en outre, du produit obtenu, en concentrant dans le vide à 30° les bouillons de cultures filtrés sur bougie, produit contenant surtout des toxalbumines. Ce dernier liquide aurait une action tout opposée à celle de la tuberculine ; il fait périr les animaux dans le collapsus et l'hypothermie, tandis que la tuberculine est hyperthermisante. Les animaux reçoivent des doses progressivement croissantes d'un mélange de trois parties du premier liquide et d'une partie du second. Ils peuvent être considérés comme immunisés au bout de six mois ; on peut les saigner trois ou quatre semaines après la dernière injection. Chez le cobaye sain, un centimètre cube d'un tel sérum annihile l'action d'une dose sûrement mortelle de tuberculine; une proportion de 2 à 4 centimètres cubes fait supporter sans trouble, à un cobaye tuberculeux, l'injection d'un demi-centimètre cube de tuberculine qui, d'ordinaire, le tue en peu d'heures.

Les résultats cliniques paraissent assez favorables à l'application de ce sérum au traitement de la tuberculose de l'homme, surtout prise à son début. Il faut encore attendre pour juger sûrement de la méthode.

Klebs (4) réussirait à guérir des animaux tuberculeux en les traitant

(1) Héricourt et Richet, De la vaccination contre la T. (*Études expér. et clin. sur la T.*, III, 1892, p. 124 et 365).

(2) Auclair, Essais de sérothérapie expérimentale antituberculeuse à l'aide du sang de poules traitées (*Arch. de méd. expér.*, VIII, 1896, p. 445).

(3) Maragliano, Le sérum antituberculeux et son antitoxine (*Presse méd.*, 1896, p. 273).

(4) Klebs, Ueber heilende und immunisirende Substanzen aus Tuberkelbacillen-Culturen (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 488).

seulement par certains des produits des cultures tuberculeuses, qu'il obtient en traitant par l'alcool l'extrait glycéro-aqueux des *Bacilles de la tuberculose*. Il retire une substance légèrement soluble dans l'eau phéniquée, qui donne nettement la réaction du biuret. Cette substance provoquerait la dégénérescence régressive des lésions tuberculeuses. De bons résultats auraient été observés chez l'homme.

Habitat et rôle étiologique.

Le *Bacille de la tuberculose* doit être très répandu dans la nature. L'expectoration des phtisiques, en particulier, en répand un nombre considérable dans le milieu extérieur; les autres produits tuberculeux, les cadavres d'hommes ou d'animaux tuberculeux, en augmentent encore le nombre. Ces produits se dessèchent ; les microbes qu'ils contiennent se mêlent aux poussières et peuvent être mis en suspension dans l'air. Ceux qui sont dans les couches profondes du sol peuvent être ramenés à la surface par des manipulations du sol ou par des êtres qui vivent dans ces couches profondes, vers de terre (1) ou autres animaux. Ces Bacilles ne peuvent guère se multiplier dans le milieu extérieur, à cause de leurs exigences spéciales, particulièrement le besoin d'une température assez élevée ; mais ils y conservent longtemps leur virulence.

Les tentatives faites pour déceler la présence directe du *Bacille de la tuberculose* dans l'air ont échoué jusqu'ici. Il existe cependant des faits expérimentaux certains qui permettent de se faire une opinion. Cadéac et Malet (2) ont observé la tuberculose chez des cobayes auxquels ils avaient injecté dans le péritoine de l'eau de condensation de l'air d'une salle de phtisiques. Cornet (3) a obtenu de nombreux résultats positifs en inoculant par la même méthode des poussières recueillies dans les salles de phtisiques ou dans des appartements occupés par des tuberculeux. Straus (4) a démontré la présence de *Bacilles tuberculeux* virulents à l'intérieur de la cavité nasale d'individus sains fréquentant les milieux habités par des phtisiques ; la moitié des sujets fréquentant le milieu hospitalier, indemnes de tout soupçon de tuberculose, hébergeaient le *Bacille de la tuberculose* virulent dans leurs cavités nasales.

L'air expiré par les phtisiques s'est toujours montré indemne.

Les Bacilles peuvent être disséminés en outre par d'autres moyens de transport. C'est ainsi que Spillmann et Haushalter (5) ont démontré que les mouches, qui s'abattent en essaim sur les crachoirs des salles d'hôpital, en été, emportent de nombreux *Bacilles tuberculeux*, soit accolés à leurs téguments, soit introduits dans leur intestin, qu'ils traversent sans subir d'altération.

L'étiologie de la tuberculose est aujourd'hui facile à établir. L'infection se fait par pénétration de Bactéries spéciales dans l'organisme; elle doit toutefois ne se produire que chez des individus présentant une

(1) Lortet et Dupeignes, Vers de terre et Bacille tuberculeux (*Lyon méd.*, 1892, p. 157).

(2) Cadéac et Malet, De la transmission de la T. par l'air expiré et par l'atmosphère (*Revue de méd.*, 1887, p. 545).

(3) Cornet, Die Verbreitung der Tuberkelbacillen ausserhalb des Körpers (*Zeitschr. für Hygiene*, V, 1888, p. 191).

(4) Straus, Sur la présence du Bacille de la T. dans les cavités nasales de l'homme sain (*Acad. de méd.*, 3 juillet 1894. — *Arch. de méd. expér.*, 1894, p. 633).

(5) Spillmann et Haushalter, Dissémination du Bacille de la T. par les mouches (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 16 août 1887).

prédisposition particulière ou acquise. Les voies d'infection sont diverses et le mode de développement de la maladie semble être en rapport direct avec le lieu d'entrée du virus, les lésions primitives, parfois uniques, se trouvant dans le voisinage immédiat. La contamination se fait le plus souvent par les voies pulmonaires ou le tube digestif. L'expérimentation prouve qu'elle s'obtient facilement dans ces deux cas; on rend très vite des animaux tuberculeux en leur faisant respirer de l'air où l'on pulvérise des produits de cultures, et aussi en leur faisant absorber, avec leur nourriture, de ces mêmes cultures ou des produits tuberculeux. Les choses se passent assurément de même dans la nature. L'expectoration des phtisiques joue ici le rôle primordial dans la contamination; c'est de ce côté surtout qu'il faut se tourner pour instituer une prophylaxie sérieuse. Ces germes, retenus en suspension dans l'air, sont inhalés avec lui, se fixent dans les voies respiratoires, et, s'ils n'y sont pas détruits, peuvent y provoquer leurs manifestations morbides. Il ressort d'expériences de Cadéac et Malet (1) que l'état dans lequel se trouve la matière virulente lors de son entrée dans l'appareil respiratoire influe considérablement sur les résultats. Tandis que l'inhalation de poussières sèches renfermant des *Bacilles tuberculeux* ne donne que rarement la tuberculose, la pénétration dans les voies respiratoires de ces mêmes Bactéries mélangées à des liquides, soit par pulvérisation, soit par introduction directe, rend constamment phtisiques les animaux sur lesquels on expérimente. On sait que tous les germes contenus dans l'air inspiré se fixent dans les bronches ou les poumons; l'air expiré est toujours complètement dépourvu de germes. Cadéac et Malet (2), Straus (3), l'ont montré pour diverses maladies contagieuses, en particulier la tuberculose.

L'infection par la voie intestinale, très facile à produire expérimentalement, doit être fréquente aussi dans la nature. Chauveau en a annoncé la possibilité dès 1868 (4). Depuis, de nombreuses expériences, faites avec des produits tuberculeux ou des cultures, ont confirmé ses résultats. Ces faits ont une portée hygiénique considérable. Ils démontrent, en effet, que l'alimentation peut jouer un grand rôle dans la transmission de la phtisie. Or, un grand nombre de produits d'alimentation provenant d'animaux tuberculeux peuvent contenir le *Bacille de la tuberculose*. C'est au premier rang les viscères, foie, rate, poumons surtout; puis, lorsque la tuberculose se généralise, les muscles et des produits de sécrétion, le lait surtout. Les viandes tuberculeuses, trop aisément admises encore dans la consommation, conservent toute leur puissance virulente, même après une cuisson modérée, comme l'ont démontré les expériences précédemment citées de Galtier, même après la salaison ou la fumure, lorsque ces procédés ne sont pas appliqués à fond. La tuberculose y est la plupart du temps difficile à reconnaître, à cause de la dissémination et du peu d'étendue des lésions et de l'enlè-

(1) Cadéac et Malet, Recherches expérimentales sur la transmission de la T. par les voies respiratoires (*Ibid.*, 12 décembre 1887).

(2) Cadéac et Malet, *Revue de méd.*, 1887.

(3) Straus, Sur l'absence de microbes dans l'air expiré (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 5 décembre 1887).

(4) Chauveau, T. expérimentalement produite par l'ingestion de matière tuberculeuse (*Gaz. méd. de Lyon*, 1868).

vement, opéré d'avance, de tout ce qui peut attirer l'œil de l'inspecteur, qui ne peut se prononcer en toute assurance lorsqu'il n'a pas à sa disposition les organes où les localisations se montrent avec évidence.

Le lait renferme souvent les *Bacilles tuberculeux*, comme le prouvent de nombreux résultats positifs obtenus à la suite d'injections intrapéritonéales aux cobayes de laits provenant de vaches tuberculeuses (1); on doit très probablement lui rapporter une bonne partie des tuberculoses des voies digestives, si fréquentes chez les enfants du premier âge.

Le *Bacille tuberculeux* peut également se rencontrer dans les produits dérivés du lait, le beurre principalement. Sa présence se recherche par l'inoculation dans le péritoine de cobayes de quelques centimètres cubes, 4 à 5, par exemple, du beurre maintenu fondu à 37°. Alors que les recherches de Rabinowitch (2) la font regarder dans ces conditions comme presque exceptionnelle, celles de Petri (3), de Hormann et Morgenroth (4), d'Obermuller (5), la donnent comme assez fréquente. Il est nécessaire de bien faire ici la distinction entre un *Bacille pseudo-tuberculeux* se rencontrant très souvent dans le beurre, présentant les mêmes caractères de forme et de coloration que le *Bacille tuberculeux*, mais s'en distinguant surtout parce qu'il pousse facilement sur tous les milieux de culture usuels à la température ordinaire et qu'il donne de l'indol dans les bouillons peptonisés. Le beurre, se consommant très souvent frais, peut être un excellent véhicule du contage. Morgenroth (6) signale la présence du *Bacille tuberculeux* virulent dans la margarine du commerce.

La transmission peut se faire par inoculation directe sur la peau ou les muqueuses; certains *tubercules anatomiques* peuvent reconnaître cette origine. Ce mode d'infection est cependant assez rare.

Certains sujets, enfin, semblent naître tuberculeux. Le passage des *Bacilles tuberculeux* dans le placenta et la production de tubercules chez les fœtus de femelles de cobayes tuberculeuses ont été constatés par Koubassoff (7). Par contre, nous avons vu que Sanchez-Toledo (8), en expérimentant sur les mêmes animaux, a constamment obtenu des résultats négatifs; mais de nombreuses observations cliniques de médecins ou de vétérinaires démontrent nettement l'existence de la tuberculose congénitale, qui est nettement démontrée par l'expérimentation (Voy. p. 529).

Toutefois, l'observation conduit à admettre la rareté de la tuberculose congénitale chez les rejetons de tuberculeux, provenant très pro-

(1) Nocard, Études sur l'inoculation du suc musculaire et du lait non bouilli des vaches tuberculeuses (*Rec. de méd. vétér.*, 1885).

(2) L. Rabinowitch, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVI, 1898, p. 90. — Et : *Deutsche med. Wochenschr.*, janv. 1899, n° 1).

(3) Petri, Zum Nachweiss der Tuberkelbacillen in Butter und Milch (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, XIV, 1898, p. 1).

(4) Hormann et Morgenroth, *Hygienische Rundschau*, 1898, p. 217.

(5) Obermuller, *Hygienische Rundschau*, 1899, n° 2, p. 57.

(6) Morgenroth, *Hygienische Rundschau*, IX, n° 10.

(7) Koubassoff, Passage des microbes pathogènes de la mère au fœtus (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1885).

(8) Sanchez-Toledo, Recherches expérimentales sur la transmission de la T. de l mère au fœtus (*Arch. de méd. expér.*, 1889, p. 503).

bablement de ce que le placenta n'est pas souvent atteint dans cette affection et peut alors jouer son rôle de filtre. Mais il est démontré, surtout par des expériences de Charrin (1), que de tels rejetons sont dans un état réel d'infériorité organique et peuvent moins bien se défendre contre les infections et en particulier contre l'infection tuberculeuse qui les menace de tous côtés. Ce que le médecin doit conclure de ceci, c'est qu'il y a surtout nécessité de soustraire les enfants de parents tuberculeux à tout danger de contamination.

Les conditions de réceptivité, peu connues encore, doivent jouer un grand rôle dans la transmission de la maladie; il existe des prédispositions qui souvent ne se développent qu'accidentellement. Ces prédispositions influent non seulement sur l'évolution générale de l'affection, mais encore sur les localisations qu'elle produit. Il est difficile actuellement d'être très précis à ce sujet. Il est probable qu'il y a là une véritable tare cellulaire qui peut avoir été produite par l'action des produits toxiques, qui fait en tout cas que l'organisme se trouve en réel état d'infériorité vitale.

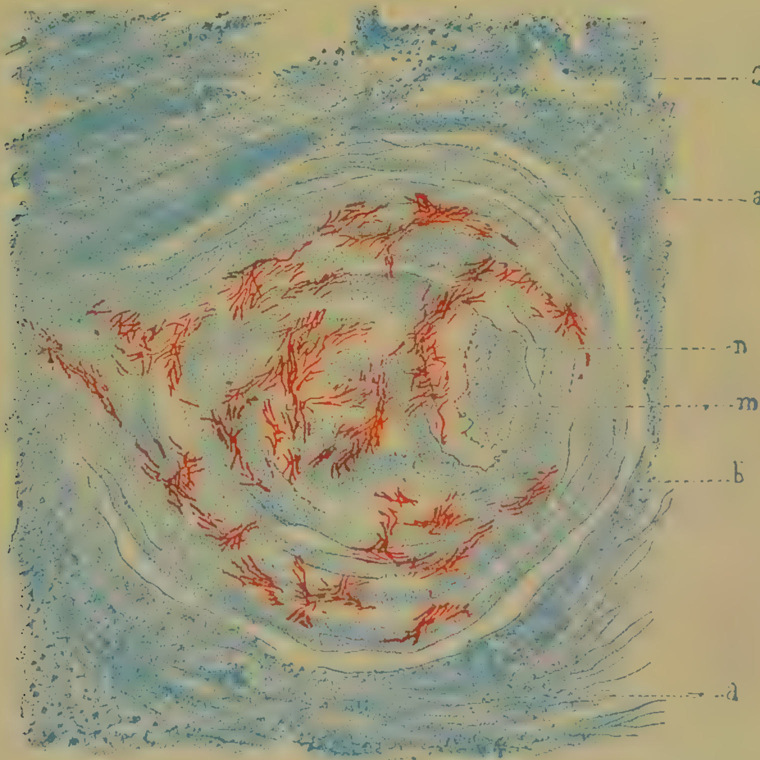


Fig. 222. — Tubercule fibreux du poumon (d'après Cornil et Babès).

a, tissu pulmonaire atteint de pneumonie interstitielle ; *b*, Bacilles en forme de touffes situés entre les faisceaux ; *m*, petit séquestre situé au milieu d'une perte de substance dont les bords sont couverts de Bacilles ; *n*, fente située entre le tubercule et le tissu voisin. 500/1.

Les lésions caractéristiques sont les granulations tuberculeuses, pouvant se rencontrer dans presque tous les organes (fig. 222). On trouve dans la masse centrale, qui peut se nécroser, des proportions variables

(1) Charrin, Modifications constatées dans l'organisme des rejetons des tuberculeux (*Congrès pour l'étude de la T.*, 1898).

de Bacilles caractéristiques, libres ou contenus dans l'intérieur des *cellules géantes*, si constantes dans la tuberculose (fig. 211 et 223), qui pour Weigert (1) seraient uniquement produites par l'irritation causée par la présence de ces Bactéries dans une cellule. Lorsque la nécrose continue à se produire, la lésion s'étend et peut prendre alors de grandes proportions. C'est ainsi que se forment les *cavernes* dans les poumons tuberculeux dont les parois internes sont tapissées de masses caséeuses plus ou moins épaisses, où se rencontrent en très grande abondance les *Bacillus tuberculeux* (fig. 224, *a*). C'est ce processus de nécrose qui met en liberté les Bacilles dans la sécrétion des organes attaqués, et tout spécialement dans les crachats, dans la phtisie pulmonaire. On les y trouve tantôt rares, tantôt en grand nombre, formant de véritables amas; seul ou le plus souvent avec d'autres que l'on distingue à leur moindre résistance à le décoloration, fréquemment avec le *Micrococcus tetragenus* qui se trouve également sur les parois des cavernes (fig. 225), avec des gros paquets de Sarcines, très fréquentes dans ces conditions, dont le rôle est absolument inconnu, ou avec d'autres espèces pathogènes ou saprophytes.



Fig. 223. — Cellule géante avec *Bacilles tuberculeux*.

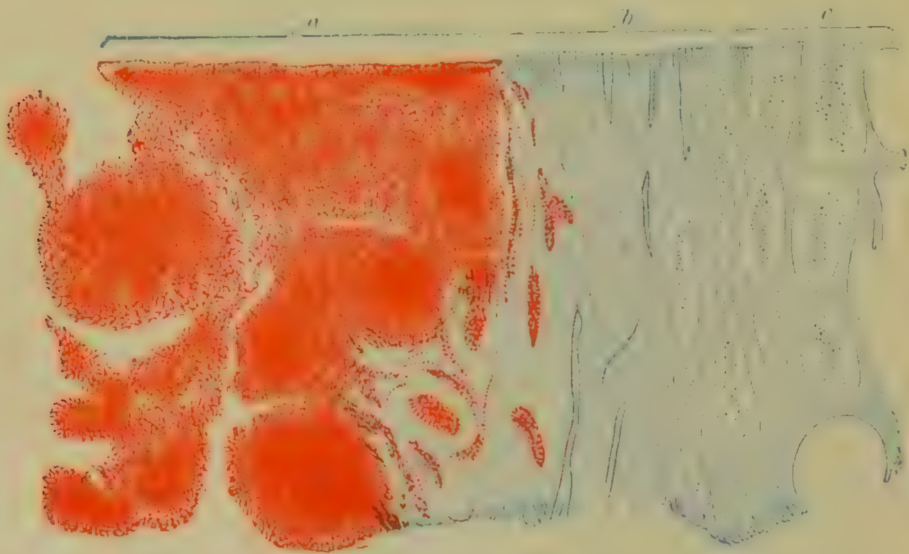


Fig. 224. — *a*, coupe à travers la paroi d'une caverne à face interne recouverte de grumeaux caséeux avec de nombreux *Bacilles tuberculeux*; *b*, paroi connective; *c*, parenchyme alvéolaire. 380/1 (d'après Rindfleisch).

Dès qu'une caverne est en effet formée, comme sa cavité est en communication avec les bronches, il y a apport possible de germes avec l'air. Ces germes, trouvant là un milieu favorable, y pullulent rapidement; les germes pathogènes ajoutent leurs effets spéciaux à ceux du *Bacille tuberculeux*; les saprophytes peuvent agir par leurs produits de sécrétion qui favorisent ou exaltent l'action des pathogènes, ou diminuent la résistance de l'organisme. On rencontre fré-

(1) Weigert, Zur Theorie der tuberkulösen Riesenzellen (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1885).

quemment les *Staphylocoques pyogènes*, le *Streptocoque pyogène*, ce qui a fait dire que le tuberculeux à cette période était en plus un pyohémique. Le *Pneumocoque* se rencontre encore assez souvent, de même le *Pneumobacille*. On a signalé le *Bacillus pyogenes fœtidus*, le *Bacille du pus bleu*. Le *Micrococcus tetragenus*, d'après Koch, pourrait même contribuer à la destruction du tissu pulmonaire. Le *Bacille des crachats verts*, de nombreux microbes des putréfactions, des *Levures*, ne peuvent aussi qu'avoir une action défavorable. Il existe souvent une réelle *association microbienne* qui produit ainsi un processus complexe. une véritable *infection mixte* (Mischinfection) qui est peut-être pour beaucoup dans l'établissement de la cachexie tuberculeuse (1).

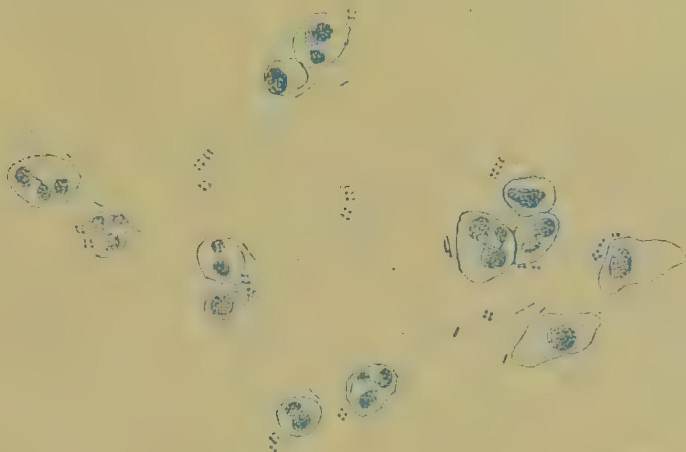


Fig. 225. — Crachats tuberculeux avec *Micrococcus tetragenus*.

Le Bacille paraît pouvoir se conserver virulent, même pendant longtemps, dans les tubercules crétacés, au milieu de la gangue calcaire. C'est ce qui résulte d'une observation de Haushalter (2) qui a déterminé la tuberculose chez le cobaye à la suite de l'inoculation de la partie centrale d'un pneumolithe de la grosseur d'un pois.

On rencontre aussi le *Bacillus tuberculosis* dans plusieurs autres affections que l'on est unanime maintenant à rattacher à la tuberculose, les abcès froids, des caries osseuses, une variété d'ostéite chronique, des affections cutanées, le lupus tuberculeux entre autres, où l'action nécrotique du parasite apparaît toujours évidente. Dans les cas de suppuration prolongée, les Bacilles sont souvent très rares, difficiles à rencontrer dans le pus ; les inoculations et les cultures peuvent alors rendre plus de services que l'examen microscopique. Le pus peut même être véritablement amicrobien ou ne contenir que des Bacilles morts ; les accidents sont dus aux matières toxiques qui les imprègnent.

Dans l'organisme atteint, le Bacille est d'ordinaire localisé aux lésions tuberculeuses. Dans les granulations grises, on les trouve surtout au centre; quand les tubercules se caséifient, ils deviennent de plus en plus rares dans les parties nécrosées et ne se rencontrent guère qu'à la périphérie. Ils peuvent, dans les cavernes, former de véri-

(1) Spillmann, Les associations microbiennes et les infections mixtes (*Rapport au IVe Congrès franç. de méd.*, 1898).

(2) Haushalter, Persistance de la virulence du Bacille de Koch dans un tubercule crétacé (*Revue méd. de l'Est*, 1891, p. 150).

tables amas sur les parois (fig. 224) ; ils envahissent parfois la lumière des petites artérioles ou des veinules situées contre les tubercules ; c'est ce qui explique leur passage dans le sang.

On a, en effet, constaté la présence de *Bacilles tuberculeux* dans le sang dans des cas de tuberculose miliaire aiguë (1). Villemin avait du reste déjà annoncé que quelquefois le sang de tuberculeux recueilli à l'autopsie se montrait virulent. Les injections de tuberculine favoriseraient le passage des Bacilles dans le sang. On comprend que toute ouverture de foyer tuberculeux dans un vaisseau sanguin détermine le passage de Bacilles dans le sang ; si l'on n'en retrouve pas plus souvent, c'est qu'ils y sont rapidement détruits. Nocard (2) cependant avoue qu'il n'est jamais parvenu à rendre tuberculeux des cobayes auxquels il injectait dans le péritoine du sang de bovidés tuberculeux recueilli tout à fait aseptiquement.

Le suc musculaire extrait par pression peut contenir des *Bacilles tuberculeux*, comme le prouvent des inoculations positives rapportées par plusieurs observateurs. Cette virulence est probablement due à la présence de Bacilles dans le sang ; elle a une importance très grande au point de vue de la consommation des viandes d'animaux tuberculeux et des dangers que peuvent courir ceux qui s'en nourrissent. Les expériences faites avec les procédés les plus délicats, l'inoculation intra-péritonéale au cobaye surtout, démontrent que cette présence de *Bacilles tuberculeux* dans le muscle est chose assez rare et qu'elle ne s'observe guère que quand la tuberculose est parvenue à une phase avancée.

On n'a pas encore démontré jusqu'ici la présence du *Bacille tuberculeux* dans le lait chez la femme. Chez la vache, au contraire, de nombreuses expériences démontrent que le lait est parfois virulent. Bien des expérimentateurs, Nocard en particulier, admettent que le lait ne renferme des Bacilles, et par conséquent n'est virulent, que quand la mamelle est le siège de localisations tuberculeuses ; les lésions envahissant les parois de canaux excréteurs peuvent déverser des produits pathologiques dans leur intérieur.

Il en est de même de beaucoup d'autres glandes, les glandes reproductrices en particulier, ce qui explique la possibilité de la rencontre de *Bacilles de la tuberculose* dans leurs produits de sécrétion.

Il n'est guère de maladies qui frappent un aussi grand nombre d'espèces animales. L'homme lui paye un lourd tribu ; c'est de beaucoup l'affection qui a presque partout la part la plus grande dans la mortalité ; dans bien des centres, elle est la cause du quart des décès.

Elle se présente chez l'homme sous les aspects les plus divers.

Elle atteint toutes les espèces de mammifères domestiques, très inégalement il est vrai.

La tuberculose des bovidés est très commune ; chez la vache, elle attaque souvent le poumon et la mamelle ; c'est la *pommelière*. Les vaches laitières soumises à une stabulation prolongée y sont surtout sujettes, principalement à cause de leur séjour dans des étables contaminées. La marche de la pommelière est ordinairement très lente et

(1) Weichselbaum, Ueber Tuberkelbacillen im Blut bei allg. akuter Miliartuberkulose (*Wiener med. Wochenschr.*, 1884).

(2) Nocard, Les T. animales, p. 129.

insidieuse; fréquemment l'animal garde une bonne apparence tout en étant porteur de lésions avancées. La mamelle est souvent atteinte; le lait peut alors renfermer des Bacilles. Les veaux sont très rarement tuberculeux. Nocard (1) donne la proportion de 1 à 5 p. 1000, comme moyenne observée dans les abattoirs; Klepp (2) a obtenu 6,5 p. 1000 dans des conditions très défavorables, avec une bonne moitié des vaches tuberculeuses.

Elle est rare chez les petits ruminants, le mouton et surtout la chèvre; exceptionnelle chez le cheval et l'âne (3).

Le porc est plus exposé que ces derniers animaux à prendre la tuberculose. Souvent la maladie a une marche chronique, compatible avec un état général satisfaisant; le poumon renferme de gros foyers caséeux, les ganglions sont pris, ceux de la base du cou sont gonflés, ce qui avait fait nommer cette forme *scrofulose du porc*.

Les singes élevés dans nos pays meurent très souvent phtisiques.

Le chien, le chat peuvent aussi devenir tuberculeux; dans ce cas, le plus souvent ces animaux vivaient avec des personnes tuberculeuses et devaient être contaminés par elles (4).

On a observé, dans des ménageries, la tuberculose chez beaucoup de carnassiers sauvages.

La tuberculose spontanée paraît être rare chez le lapin et le cobaye, si aptes à contracter la tuberculose expérimentale; Koch l'a observée une fois sur un lapin sauvage. Ce sont surtout des formes de pseudo-tuberculoses que l'on rencontre chez eux.

La tuberculose des oiseaux est une affection fréquente. Elle frappe toutes les espèces d'oiseaux domestiques; les oiseaux de volière, les perroquets meurent très souvent tuberculeux et présentent souvent des lésions ulcéreuses externes qui disséminent facilement le contage. Il se produit dans les poulaillers de véritables épidémies de tuberculose à la suite du contact d'animaux tuberculeux, peut-être même, parfois, à la suite d'ingestion de crachats tuberculeux humains. Nous avons vu que cette tuberculose aviaire, considérée d'abord comme absolument distincte de la tuberculose humaine et bovine, devait leur être identifiée, les caractères donnés comme distinctifs étant insuffisants. Il y a par conséquent danger à laisser les volailles malades à la consommation.

Walter Sibley (5) a observé des tubercules contenant le Bacille de Koch, chez un serpent commun dans nos régions, la couleuvre à collier (*Tropidonotus natrix*). Mais, il ne base sa détermination que sur la seule réaction de coloration; aussi reste-t-elle douteuse à cause des autres microbes qui peuvent aussi la présenter.

Dubard (6) signale l'existence de la tuberculose chez des Carpes, déter-

(1) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux, 2e éd., p. 633.

(2) Klepp, Ueber angeborene T. bei Kälbern (*Zeitschr. für Fleisch und Milch-hygiene*, 1896).

(3) Blanc et Nocard, La T. de l'âne (*Congrès pour l'étude de la T.*, 1898).

(4) Cadiot, Contribution à l'étude de la T. chez les petits animaux (*Acad. de méd.*, 17 novembre 1896).

(5) Walter Sibley, T. bei Schlangen (*Virchow's Arch.*, Berlin, Bd CXVI, 1889, p. 104).

(6) Dubard, La T. des animaux à sang froid (*Revue de la T.*, 1898, p. 13). — Kral et Dubard, Étude morphologique et biologique sur le *Bacillus tuberculosus piscium* (*Ibid.*, p. 129).

minée probablement par l'ingestion de produits tuberculeux d'origine humaine, ingestion dont la nocuité est du reste démontrée par des expériences de Nicolas et Lesieur (1). Le Bacille isolé des tumeurs volumineuses que portaient ces poissons se distingue en ce qu'il végète activement de 10° à 30°, et très lentement à 37°. Les cultures du début diffèrent de celles du Bacille humain ou aviaire, mais prennent après quelques générations les caractères du dernier type. L'odeur des cultures en surface est identique à celle des cultures de tuberculose humaine. Les cultures du début ne sont virulentes ni pour le cobaye, ni pour le lapin, ni pour les oiseaux ; elles donnent par contre la tuberculose aux carpes et cyprins dorés, grenouilles, crapauds, tritons, tortues, lézards, orvets, couleuvres et vipères. Après plusieurs passages sur le cobaye et le lapin, il devient seulement possible d'obtenir la tuberculisation du cobaye. Ceci se rapproche de l'atténuation de la virulence du *Bacille tuberculeux* par son passage chez les animaux à sang froid signalée plus haut (p. 534). Dubard propose de nommer son Bacille *Bacillus tuberculosus piscium*. D'après Ramond (2), le *Bacille tuberculeux des poissons* donnerait une tuberculine identique à celle obtenue avec le Bacille humain.

Toutes ces particularités connues trouvent leur application dans la prophylaxie de cette terrible affection. Les crachats des phtisiques doivent être désinfectés avec soin à l'eau bouillante; par l'ébullition, les crachats sont stérilisés en quelques minutes, ou avec une forte solution d'acide phénique ; il est des plus importants d'empêcher leur dissémination dans le milieu extérieur. La chair et surtout les organes des animaux tuberculeux, où peut se rencontrer le parasite, doivent être l'objet d'une prohibition absolue, ou plutôt de précautions toutes spéciales destinées à assurer la destruction sûre des germes virulents; les autorités à qui incombe cette surveillance se rappelleront que la moindre négligence peut mettre en jeu plusieurs vies d'hommes. C'est à la source de la contagion qu'il faut élever la barrière.

Recherche et diagnostic.

La recherche du *Bacille de la tuberculose* et sa reconnaissance dans les produits suspects sont basées tout d'abord sur les particularités de coloration dont nous avons parlé précédemment (p. 508). Nous avons vu que quelques autres Bactéries seulement se coloraient par les mêmes procédés ; c'est d'abord le *Bacille de la lèpre* et le *Bacille du smegma*. Le premier se colore aux solutions aqueuses simples et résiste beaucoup plus à la décoloration. Le second ne résiste à la décoloration par les acides que lorsqu'il est imprégné de graisse ; en traitant les préparations par de la lessive de soude ou l'alcool, on lui fait perdre cette propriété que le *Bacille de la tuberculose* conserve dans les mêmes conditions.

De plus amples détails seront, du reste, donnés à l'étude de ces espèces. D'autres espèces, moins bien connues, présentent aussi ces mêmes réac-

(1) Nicolas et Lesieur, Effets de l'ingestion de crachats tuberculeux humains chez les poissons (*Soc. de Biol.*, 7 octobre 1899).

(2) Ramond, Sur une nouvelle tuberculine (*Soc. de Biol.*, 28 mai 1898).

tions de coloration; Severin (1) cite un Bacille qu'il a rencontré sur le crottin de cheval ; Ferran (2) en trouve dans les excréments de vache, de cheval et d'homme ; Moeller (3) sur des fourrages et dans les excréments de vaches. Il est encore difficile, aujourd'hui, de se prononcer sur la nature vraie de ces formes qui paraissent ne pas pouvoir déterminer les lésions tuberculeuses expérimentales ou sont tout à fait sans action pathogène; on peut, il est vrai, les considérer également comme du *Bacille tuberculeux* passé à l'état de saprophyte, comme il a été dit prédemment (p. 516).

La recherche microscopique du *Bacille de la tuberculose* dans les produits tuberculeux peut ne pas donner de résultats positifs lorsque les Bacilles y sont très peu nombreux. L'inoculation au cobaye est alors à employer; il est dans ce cas préférable de recourir à l'inoculation intra-péritonéale. Le cobaye est si sensible à l'infection tuberculeuse qu'il sera possible de reconnaître la virulence de produits dans lesquels un examen microscopique minutieux n'aura rien pu faire déceler.

Enfin, l'emploi de la tuberculine permet de poser facilement le diagnostic de tuberculose lorsque l'on observe la réaction dont il a été parlé. C'est surtout un moyen très précieux pour établir le *diagnostic précoce de la tuberculose bovine*, les symptômes ordinaires et la constatation de la présence du *Bacille tuberculeux* pouvant faire défaut ou être très difficiles à établir.

La recherche du *Bacille de la tuberculose* se fait dans des produits très divers, liquides, sérosités, humeurs physiologiques ou pathologiques, tissus des différents organes. Comme on s'adresse le plus souvent à l'examen des crachats, il est surtout utile de donner quelques détails à ce sujet.

Recherche et diagnostic par le microscope. — Recherche du Bacille de la tuberculose dans les crachats. — Les crachats tuberculeux n'ont pas, à vrai dire, de caractères macroscopiques spéciaux. Ils peuvent avoir des aspects très divers, être rares ou abondants, liquides ou visqueux, grisâtres ou jaunâtres, parfois colorés par du sang ; ils peuvent être muqueux ou plus ou moins purulents.

Il faut se souvenir qu'on ne peut trouver de *Bacille tuberculeux* dans les crachats que s'il existe déjà des foyers ramollis en communication avec les bronches; dans la tuberculose miliaire aiguë, les Bacilles font le plus souvent défaut. Il est à recommander de se servir surtout des premiers crachats du matin. Lorsqu'on a affaire à de petits enfants qui ne crachent pas, mais avalent leurs crachats, on peut, pour rechercher le Bacille, s'adresser aux mucosités du pharynx que l'on se procure à l'aide de tampons, ou extraire de l'estomac, par un petit lavage fait le matin à jeun, des parcelles de crachats dégluties, ou encore faire les recherches sur les selles.

Pour les préparations destinées à cette recherche, il faut choisir de

(1) Severin, Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung derselben (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., I, 1895, p. 97 et 160).

(2) Ferran, Nouvelles découvertes sur le Bacille de la T. et la solution expérimentale du problème de la prophylaxie et de la guérison de cette maladie (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 31 mai 1898).

(3) Moeller, Ein Mikroorganisme, welcher sich morphologisch und tinktoriell wie der Tuberkelbacillus verhält (*Deutsche med. Zeit.*, 1898, p. 135. — Et : *Deutsche med. Wochenschr.*, 1898, n° 24, p. 376).

préférence les grumeaux jaunâtres qui se rencontrent dans les crachats, en les dissociant s'il le faut avec un fil de platine. On en étale une petite portion sur la lamelle bien propre, on en écrase le grumeau entre deux lamelles pour avoir une couche assez mince. Il peut suffire de plonger à plusieurs reprises le fil de platine dans les parties épaisses des crachats et d'étaler sur les lamelles les petites quantités de substance ainsi ramenée.

La lamelle ainsi préparée doit être desséchée à une douce température, puis fixée par passage à trois reprises dans la flamme bleue d'un bec de Bunsen (Voy. p. 288). Elle peut être soumise aux méthodes de coloration.

On a préconisé de nombreuses méthodes de coloration à appliquer aux crachats tuberculeux. Deux surtout paraissent faciles et commodes, la coloration par le *procédé d'Ehrlich* et celle par le *procédé de Ziehl*; elles ont été exposées plus haut (p. 509). Le *procédé de Kühne* (p. 510), celui de Hauser (p. 510), sont également très recommandables.

D'après Lucibelli (1), dans les crachats conservés très peu riches en Bacilles, le *Bacille tuberculeux* pourrait perdre rapidement sa colorabilité.

Lorsqu'on décolore aux solutions acides, il est à recommander de ne pas laisser les préparations soumises trop longtemps à l'action du décolorant; le *Bacille de la tuberculose* peut en effet se décolorer après une action de dix à quinze minutes de durée. L'usage des acides organiques comme décolorants permet d'éviter facilement cette cause d'erreur (p. 510).

Il y a avantage à soumettre les préparations colorées et lavées à une double coloration. On choisit alors comme colorant de fond une couleur qui tranche bien avec la première; avec la fuchsine on prend le bleu de méthylène, avec les violets la vésuvine ou l'éosine. Cette coloration de fond doit toujours être légère. Elle permet de mieux étudier la préparation et surtout de se rendre un compte beaucoup plus exact des autres éléments que la préparation peut contenir, éléments cellulaires ou autres microbes dont la constatation peut être importante pour le diagnostic complet.

Les préparations faites sont examinées au microscope avec condenseur à l'aide d'un fort objectif à sec ou d'un objectif à immersion. L'emploi d'une vive lumière, telle que celle qu'on obtient avec une large ouverture ou même la suppression complète du diaphragme, est souvent à recommander; ce moyen fait disparaître bien des détails pour pour faire ressortir les parties vivement colorées comme les Bacilles.

Les *Bacilles tuberculeux* des crachats peuvent avoir des aspects très divers. Ils sont petits ou grands, souvent pliés ou courbés, droits ou moniliformes, parfois cocciformes; complètement homogènes ou montrant les vacuoles dont il a été parlé plus haut (p. 506). On les trouve isolés, réunis en petit nombre ou en amas plus ou moins volumineux. Ils sont libres ou inclus dans des cellules d'épithélium alvéolaire ou des globules de pus.

Les éléments cellulaires que l'on peut rencontrer dans les crachats proviennent du poumon ou de la cavité buccale. Ce sont des cellules de l'épithélium alvéolaire, arrondies, à gros noyau, des globules de pus, des fibres élastiques, indices de la destruction du parenchyme pulmonaire; quelquefois, des cellules cylindriques de l'épithélium des bron-

(1) Lucibelli, *Gazz. degli osped.*, 26 novembre 1889.

ches, de la trachée ou du larynx; des globules rouges; des cellules épithéliales de la bouche, grandes, plates, polygonales, à angles souvent aigus. D'après Czaplewski (1), certaines cellules kératinisées, des noyaux de *mastzellen,* résistent partiellement à la décoloration.

Les crachats peuvent contenir de nombreux microbes autres que le *Bacille de la tuberculose*, provenant des lésions tuberculeuses envahies secondairement, du mucus bronchique, de la cavité buccale. Le *Micrococcus tetragenus*, le *Streptocoque pyogène*, les *Staphylocoques pyogènes*, sont fréquents; diverses espèces de *Sarcines*, des espèces de putréfaction de formes très variées se rencontrent souvent sans que leur constatation puisse donner d'indication très précise ; cependant, quand ces Bactéries sont très nombreuses, qu'elles sont réunies en grand nombre, formant des filaments longs, des amas notables, des chaînettes à beaucoup d'éléments, on peut en induire qu'il doit y avoir stagnation dans le poumon ou les bronches, permettant une sorte de culture des microbes et une prolifération active. On trouve aussi fréquemment de longs filaments de *Leptothrix*; on a signalé la présence de massues d'*Actinomyces*, de filaments de mycélium de Champignons, de Levures de l'air, du muguet.

Enfin, on peut y rencontrer des cristaux divers; quelquefois des cristaux de leucine ou de tyrosine, très rarement de cholestérine; des cristaux d'hématoïdine; surtout de petits cristaux aciculaires d'acides gras qui se colorent bien aux couleurs d'aniline et résistent parfois à la décoloration par les acides, pouvant ainsi en imposer pour des *Bacilles tuberculeux.* On distinguera ces dernières formations à leur forme régulière, leur forte réfringence, leurs arêtes droites et surtout à ce qu'elles disparaissent très vite lorsqu'on les soumet à l'action d'une lessive alcaline.

Il n'y a guère d'indications à tirer d'une façon certaine pour le pronostic de la forme, du nombre, de l'arrangement des *Bacilles tuberculeux* dans les crachats. Il en est de même de la nature et l'état des éléments cellulaires qu'ils renferment, ainsi que la nature des différents microbes qui peuvent s'y trouver. Cependant, on peut penser que la pullulation de germes nombreux dans les lésions pulmonaires, et tout particulièrement de microbes pyogènes, ne peut qu'avoir une influence mauvaise sur l'état du malade et la marche de l'affection ; le tuberculeux se double ainsi souvent d'un pyémique.

Homogénéisation des crachats. — Pour retrouver plus facilement les *Bacilles de la tuberculose* dans les crachats, on a proposé de dissoudre le mucus et les éléments qui les contiennent de façon à obtenir un liquide *homogène*, peu consistant, ne tenant en suspension que certains éléments qui ont résisté au traitement, en particulier les Bacilles. En laissant sédimenter un tel liquide, ou en le soumettant à la centrifugation, on risque de trouver dans une petite parcelle de dépôt des Bacilles qui étaient épars dans une grande masse de produit.

Biedert (2) traite les crachats par la soude de la façon suivante : 15 centimètres cubes de crachats environ sont mélangés et agités

(1) Czaplewski, Die Untersuchung des Auswurfs.
(2) Biedert, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1886, nos 42 et 43 ; 1891, n° 2, p. 32.

avec deux cuillerées à bouche d'eau ; on ajoute, suivant le degré de viscosité du mélange, 4 à 8 gouttes de lessive de soude ; on ajoute de 4 à 6 cuillerées d'eau et on chauffe dans une capsule à l'ébullition jusqu'à ce que le liquide soit devenu fluide et bien homogène. On laisse déposer quarante-huit heures dans un verre conique ; on décante avec soin et on fait des préparations avec le sédiment.

Kühne (1) traite les crachats par le borax qui les rend moins visqueux, mais ne les liquéfie pas aussi complètement que la soude. Ilkewitsch (2) préconise la potasse.

Il est bon d'être prévenu que les *Bacilles de la tuberculose* deviennent un peu plus épais par l'action des alcalis ; leur réaction de coloration n'est pas modifiée, tandis que dans les mêmes conditions les *Bacilles du smegma* ne restent pas colorés.

Spengler (3) recommande de traiter les crachats par la pancréatine qui solubilise presque tout ce qu'ils contiennent et favorise ainsi la sédimentation des Bacilles. Il mélange parties égales de crachats et d'eau tiède alcalinisée avec un peu de soude et additionnée de 0gr,1 à 1 gramme de pancréatine et met le mélange à l'étuve. Après deux ou trois heures de contact, il ajoute de 0gr,1 à 1 gramme d'acide phénique cristallisé pour empêcher la putréfaction. De douze à vingt-quatre heures, il est possible déjà de recueillir un sédiment pour en faire des préparations.

Recherche du Bacille de la tuberculose dans le sang, le pus, différents liquides de l'organisme. — Les méthodes à employer sont en tout semblables à celles qui viennent d'être exposées pour les crachats. Lorsque les Bacilles sont rares, il faut une très grande patience et de nombreuses préparations. On peut aussi *homogénéiser* le tout à l'aide de dissolvants, comme il vient d'être indiqué pour les crachats.

Pour les liquides très fluides, liquides pleurétique et ascitique, urine, on peut les laisser sédimenter ou les soumettre d'abord à la centrifugation et faire les recherches sur les sédiments. Il vaut souvent mieux employer l'inoculation au cobaye.

Dans le cas de méningite tuberculeuse, Schwartz (4) recommande l'examen du liquide céphalo-rachidien obtenu par la ponction lombaire. Ce liquide, laissé en repos vingt-quatre heures, laisse déposer des grumeaux avec lesquels on fait des préparations suivant les méthodes habituelles.

Recherche du Bacille de la tuberculose dans le lait et le beurre. — On laisse le lait en repos pendant un jour ou deux, au froid, et on recherche les Bacilles dans le sédiment (5). On peut aussi soumettre le lait à la centrifugation ; il se sépare en trois couches, une formée de

(1) Kuhne, Die Untersuchung von Sputum auf Tuberkelbacillen (*Centralbl. für Bakt.*, VIII, 1890, p. 293).

(2) Ilkewitsch, Eine neue Methode zur Entdeckung von Tuberkelbacillen in Sputum Schwindsüchtiger (*Centralbl. für Bakt.*, XV, 1894, p. 152).

(3) Spengler, Pankreatinverdauung des Sputums zum Sedementiren der Tuberkelbacillen (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1895, nº 15).

(4) Schwartz, *Arch. für klin. Med.*, LX, 1898, nos 2 et 3.

(5) Brugi, Ueber die Untersuchung der Milch auf Tuberkelbacillen. Inaugural Dissertation, Halle, 1896.

crème, une autre de lait écrémé, la troisième d'impuretés; cette dernière renferme surtout les Bacilles. On a aussi conseillé de traiter le lait par de l'acide acétique cristallisable; la caséine se précipite en entraînant les corps en suspension. On recherche les Bacilles dans les flocons de caséine par les procédés ordinaires. Toutes ces méthodes sont peu sûres, parce que le plus souvent les *Bacilles tuberculeux* sont très peu nombreux dans les laits contaminés. Il vaut mieux ici aussi s'adresser à l'inoculation intrapéritonéale au cobaye.

Pour le beurre, on injecte dans le péritoine du cobaye 4 à 5 centimètres cubes du produit maintenu fondu à 37°. Il faut se rappeler que l'on a signalé dans le beurre la présence de Bacilles autres que le *Bacille de la tuberculose*, se colorant comme lui et déterminant chez le cobaye des symptômes infectieux, différant, il est vrai, de la véritable tuberculose (1) (Voy. p. 555).

Recherche du Bacille de la tuberculose dans les tissus. — On peut employer les procédés décrits précédemment pour les crachats, en opérant sur des coupes faites sur des tissus convenablement fixés au préalable. Les méthodes de fixation qui paraissent donner les meilleurs résultats sont l'emploi de la liqueur de Flemming ou celui du sublimé à saturation dans l'eau avec addition de 5 p. 100 d'acide acétique cristallisable. Avec cette dernière solution, les morceaux de poumons sont convenablement fixés au bout de douze heures. Borrel (2) recommande comme procédé de coloration le procédé de Kühne au chlorhydrate d'aniline (p. 510).

Recherche par l'inoculation. — L'inoculation au cobaye est un moyen de recherche des plus sensibles, pouvant donner des résultats positifs quand les méthodes de coloration ont échoué. Il est à recommander d'y recourir dans tous les cas douteux. L'inoculation sous-cutanée suffit le plus souvent, mais l'inoculation intrapéritonéale vaut certainement mieux (Voy. p. 526).

Pour gagner du temps et ne pas attendre le moment assez éloigné de l'autopsie, on peut rechercher chez l'animal infecté la réaction de la tuberculine. Cette réaction se produit tôt, dès qu'il s'est fait une altération histologique, quelque minime qu'elle soit, déjà quarante heures après l'infection.

Recherche et diagnostic par l'emploi de la tuberculine. — Il peut être difficile de se procurer des produits pathologiques destinés à la recherche microscopique du *Bacille de la tuberculose* ou aux inoculations. D'un autre côté, les Bacilles eux-mêmes ne se rencontrent dans ces produits qu'à une certaine phase de la maladie; on ne les trouve dans les crachats, par exemple, qu'après la fonte de tubercules dans la cavité bronchique. L'emploi de la tuberculine, qui détermine chez tout

(1) Lydia Rabinowitch, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVI, 1897, p. 90). — Petri, Zum Nachweiss der Tuberkelbacillen in Butter und Milch (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, XIV, 1898, p. 1).

(2) Borrel, T. pulmonaire expérimentale (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 593).

tuberculeux, même au début, une réaction si vive et bien caractéristique, permet d'obtenir des données des plus précieuses au point de vue du diagnostic.

L'homme tuberculeux est extrêmement sensible à la tuberculine (p. 523); cette sensibilité est encore exaltée chez les individus affaiblis et les enfants. Aussi ne faut-il jamais se départir de la plus grande prudence, si l'on se décide à recourir à ce procédé; il est nécessaire de débuter par des doses excessivement minimes et tâter, en quelque sorte, la sensibilité du malade. *La dose de un centième de centimètre cube est une forte dose* pour un adulte tuberculeux; il vaut mieux commencer par des doses moindres, de *un à quelques millièmes de centimètre cube* au début. Il va sans dire que les dilutions doivent alors être faites avec un *soin* extrême pour avoir une évaluation précise.

Hutinel (1) dit avoir obtenu d'excellents résultats de l'emploi de la tuberculine chez les enfants dans les cas où la clinique est impuissante à éclairer sur la nature de l'infection. Il débute par 1/20 ou 1/10 de milligramme suivant l'âge de l'enfant, en se servant de la solution suivante : tuberculine, 1 centimètre cube pour 1000 centimètres cubes d'eau phéniquée à 1 p. 500. Il ne faut jamais injecter de tuberculine à un enfant qui a de la fièvre, le processus thermique observé pouvant être dû à la maladie. La réaction très faible n'occasionne que des troubles passagers. D'après Hutinel, tout enfant qui ne réagit pas à une injection de 1 milligramme de tuberculine doit être considéré comme indemne de tuberculose.

Grasset et Vedel (2) regardent la tuberculine comme un excellent moyen de diagnostic de la tuberculose chez l'homme. Ils ont employé dans leurs essais soit la tuberculine ordinaire, soit la tuberculine précipitée que livre l'Institut Pasteur.

Leur solution de tuberculine ordinaire est obtenue en mettant 1 gramme de tuberculine diluée au dixième dans 2000 centimètres cubes d'eau bouillie; cette solution contient 2/10 de milligrammes de tuberculine par centimètre cube; ils se sont servis de doses de 3 à 5 dixièmes de milligramme de tuberculine.

La tuberculine précipitée est dissoute à la dose de 50 milligrammes dans 5 centimètres cubes d'eau et glycérine à parties égales; ils l'emploient à la dose de 1 à 2, rarement 3 décimilligrammes.

Ces tuberculines, destinées aux cliniciens, doivent toujours être définies en activité avant leur emploi; on le fait en les essayant sur des cobayes tuberculeux et déterminant la dose qui est pour eux rapidement mortelle.

D'après les derniers auteurs, en s'en tenant à la marche indiquée, on n'observe jamais d'accidents à craindre et très peu de réaction locale, quelques symptômes généraux légers et insignifiants. Le sujet doit être apyrétique, mis au repos et la température relevée toutes les trois ou quatre heures. Pour être considérée comme positive, l'élévation thermique doit dépasser 1°; le maximum atteint ordinairement 1°,5 à 2°,

(1) Gaffié, Diagnostic de la T. pulmonaire infantile par les injections de tuberculine. Thèse de Paris, 1895.

(2) Grasset et Vedel, Du diagnostic de la T. humaine par les faibles doses de tuberculine (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 25 février 1896, p. 174; *Congrès franç. de méd. int. de Lille*, 1899).

jusqu'à 3°. La réaction commence de douze à vingt-quatre heures après l'injection et dure douze à quarante-huit heures, le maximum étant compris entre vingt et trente heures; pour pouvoir la suivre commodément, il est donc préférable de faire l'injection le soir, vers 5 heures.

Cette épreuve à la tuberculine ne peut guère être considérée comme un procédé général de diagnostic, mais surtout réservée aux cas douteux où les signes habituels sont insuffisants. A noter aussi que les tuberculeux avancés ne réagissent souvent pas aux faibles doses que l'on ne doit pas dépasser, ici surtout; mais alors les signes cliniques suffisent amplement.

C'est surtout pour le *diagnostic précoce* de la tuberculose des bovidés que l'emploi de la tuberculine est précieux. D'après ce que l'on sait de la possibilité de la transmission de la tuberculose par la viande et le lait des animaux tuberculeux, on conçoit la très haute importance d'établir très tôt et d'une façon sûre ce diagnostic. D'un autre côté, il est souvent difficile de se procurer des produits à examiner. Ces animaux ne crachent pas; on peut bien, suivant le conseil de Nocard, racler la muqueuse de la gorge avec une baguette et examiner le mucus obtenu. Le moyen suivant, que préconise Puech (1), est souvent plus aisé à appliquer : On met un séton à la nuque de la bête soupçonnée et on examine le pus suivant les méthodes ordinaires; il renferme souvent des Bacilles tuberculeux du huitième au quatorzième jour.

L'emploi de la tuberculine est bien plus sûr et beaucoup plus facile; il est en train de devenir une pratique courante, surtout à la suite de la vaillante propagande de Nocard.

L'injection d'une assez forte dose, 30 à 40 centigrammes, suivant la taille de l'animal, détermine chez les tuberculeux une forte réaction fébrile, avec élévation de température de 1°,5 à 3°. Chez l'animal non tuberculeux, cette même quantité ne produit aucun effet.

La réaction fébrile apparaît le plus souvent de douze à quinze heures après l'injection, quelquefois dès la neuvième heure, très rarement après la dix-huitième ; elle dure toujours plusieurs heures. La durée et l'intensité de la réaction ne sont pas en rapport avec les lésions (2).

Les tuberculeux très avancés, surtout ceux en pleine période fébrile, peuvent ne réagir que très peu ou même pas du tout à la tuberculine; leur organisme est comme imprégné de tuberculine qu'il fabrique. Mais alors toujours ici les signes cliniques ne peuvent permettre le moindre doute.

La technique de l'opération est des plus simples.

On se sert d'une dilution au dixième de tuberculine dans l'eau phéniquée à 5 p. 1000, préparée avec de l'eau récemment bouillie :

Tuberculine brute...........................	1 centimètre cube.
Eau phéniquée à 5 p. 1000....................	9 centimètres cubes.

Cette tuberculine diluée est d'une conservation limitée; il est à recommander de ne pas la conserver plus d'une quinzaine de jours

(1) Puech, *C. R. de l'Acad. des sc.*, CVIII, 1889, p. 193.
(2) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux, p. 543.

à l'obscurité dans des flacons bien bouchés. La tuberculine brute se conserve très longtemps dans ces conditions ; il vaut mieux ne préparer la dilution qu'au moment du besoin.

Il est à recommander de prendre une ou plusieurs températures la veille et le jour même, avant l'opération, pour ajourner les individus qui pourraient être sous une influence pathologique autre.

Il vaut mieux faire l'opération le soir vers 9 ou 10 heures, on dispose ainsi de toute la journée du lendemain pour suivre les températures.

L'injection se fait de préférence sous la peau, en arrière de l'épaule, avec les précautions antiseptiques habituelles (p. 277). Les proportions de liquide à injecter varient avec la force de l'animal ; pour une petite bête, injecter 3 centimètres cubes de la dilution au dixième, 3 centimètres cubes et demi pour une vache de grande taille, 4 centimètres cubes pour un fort bœuf ou taureau. Pour les veaux, la dose varie entre 1 et 2 centimètres cubes.

Il faut prendre la température toutes les deux heures, de la douzième à la vingtième heure ou au moins trois fois dans cet intervalle. Toute bête qui présente une réaction supérieure à 1°,4 doit être considérée comme tuberculeuse; une élévation de température inférieure à 0°,8 n'a aucune signification ; les bêtes dont la réaction est comprise entre 0°,8 et 1°,4 doivent être regardées comme suspectes et soumises un mois après à une nouvelle injection de tuberculine à dose plus forte que celle employée en premier lieu.

Pour empêcher la réaction de la tuberculine de se produire, on a mis à profit l'accoutumance facile de l'organisme au produit, en faisant à la bête une injection de tuberculine la veille ou l'avant-veille de l'opération de contrôle. Dans les cas où cette manœuvre pourrait être suspectée, il faut séquestrer l'animal et faire une nouvelle injection après un temps suffisant, un mois environ, pour que l'effet des inoculations précédentes soit tout à fait épuisé.

L'expérience démontre que ces injections de tuberculine n'ont aucun effet fâcheux sur la qualité du lait ou de la viande.

On peut tout aussi bien se servir de l'inoculation à la tuberculine pour établir le diagnostic de la tuberculose chez les autres animaux domestiques. Les doses doivent nécessairement varier avec la taille de l'animal. Chez le cheval, on peut injecter 3 ou 4 centimètres cubes de la dilution au dixième; chez le mouton et la chèvre de 1/2 à 1 centimètre cube; chez le porc, de 1 à 2 centimètres cubes ; chez le chien et le chat, de 1/2 à 1 centimètre cube.

Les exsudats des phtisiques contiennent de la tuberculine identique à celle des cultures, mais en proportion assez faible. En injectant à des tuberculeux du liquide d'ascite tuberculeuse à la dose de 5 à 10 centimètres cubes, Debove et Rémond ont observé la production de la réaction fébrile caractéristique. Debove et Renault ont même proposé d'utiliser cette constatation comme moyen de diagnostic dans les cas douteux, en inoculant de tels exsudats à des cobayes tuberculeux (1).

(1) Debove et Renault, *Soc. méd. des hôp.*, 1891.

Salter (1) a obtenu presque constamment la réaction typique sur des cobayes tuberculeux par inoculation de sueur de phtisiques. Rappin et Fortiveau (2) l'ont obtenu, mais d'une façon très inconstante, avec l'urine des tuberculeux.

Agglutination et séro-diagnostic.

Arloing (3) a obtenu, à la suite de manipulations spéciales, en agitant fréquemment les cultures faites dans des ballons à fond plat et de forme cylindriques, des cultures en bouillon glycériné où les Bacilles ne se réunissaient plus en voile à la surface, comme c'est le cas habituel, mais se répandaient uniformément dans le liquide, formant une émulsion homogène. Les cultures âgées de huit à dix jours sont les plus favorables à la réaction agglutinante ; à partir du quinzième jour, la substance agglutinable diminue.

De telles cultures sont nettement agglutinées par le sérum sanguin d'animaux ayant reçu quelques inoculations sous-cutanées de tuberculine ou d'émulsion de Bacilles tuberculeux.

Le sang de l'homme tuberculeux a donné les mêmes résultats dans la proportion de 92 p. 100. On peut donc penser trouver dans cette séro réaction un élément important de diagnostic.

D'après Arloing et P. Courmont (4), il faut faire trois mélanges à 1/5, 1/10 et 1/20, c'est-à-dire une goutte de sérum pour 5, 10 et 20 de culture. Les mélanges se placent dans de petits tubes stérilisés, disposés inclinés ; les grumeaux formés par l'agglutination se déposent à la partie déclive. L'agglutination n'a pas de valeur, dans un mélange dont le titre est supérieur à 1/5 ; elle fait d'ordinaire défaut au-dessous de 1/20. On doit examiner les tubes deux heures, dix heures et vingt-quatre heures après le mélange ; les modifications qui se produiraient au delà sont négligeables. Lorsque la réaction est minime, la paroi des tubes est comme finement striée de petits points ; dans les cas bien nets, les grumeaux sont assez gros. La clarification du liquide est plus ou moins complète selon l'intensité de la réaction. L'examen microscopique fait reconnaître la présence et l'importance des amas. La culture dont on se sert doit naturellement être parfaitement homogène.

Arloing (5) dit avoir constaté que le sang de chèvre pouvait acquérir des propriétés agglutinantes à l'égard du Bacille tuberculeux, sous l'influence d'injections sous-cutanées répétées de liqueur de Mialhe, d'eucalyptol, de gaïacol, de créosote, ce qui prouve que certaines sub-

(1) Salter, *The Lancet*, 15 janvier 1898, p. 152.

(2) Rappin et Fortiveau, Recherche de la réaction de la tuberculine dans l'urine des tuberculeux (*Assoc. franç. pour l'av. des sc.*, septembre 1899).

(3) Arloing, Agglutination du Bacille de la T. vraie (*Congrès de méd. de Montpellier*, 1898). — Arloing et P. Courmont, De l'obtention des cultures du Bacille de Koch les plus propices à l'étude du phénomène de l'agglutination par le sérum sanguin des tuberculeux (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 8 août 1898, p. 312).

(4) Arloing et P. Courmont, Sur la recherche et la valeur clinique de l'agglutination du Bacille de Koch par le sérum sanguin de l'homme (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CXXVII, 1898, p. 425).

(5) Arloing, Apparition dans le sérum sanguin sous l'influence de produits chimiques, d'une matière capable d'agglutiner le Bacille de la T. vraie (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CXXVI, 1898).

stances chimiques peuvent faire apparaître la propriété agglutinante dans le sérum tout comme des produits spécifiques.

PSEUDO-TUBERCULOSES.

Nous avons déjà dit que le tubercule, en tant que lésion anatomique, n'était pas l'expression de l'infection de l'organisme par le *Bacille de la tuberculose*, mais simplement l'expression d'une réaction de l'organisme contre certaines irritations. Il existe, en effet, des affections à tubercules qui ne sont nullement sous la dépendance du microbe précité ; ce sont elles que l'on désigne sous le nom très général de *pseudo-tuberculoses*.

Ces pseudo-tuberculoses peuvent être dues à des organismes très divers. La plupart sont des parasites; certains sont des Bactéries rondes ou en bâtonnets, causes des *pseudo-tuberculoses microbiennes*; d'autres, des Champignons inférieurs, de véritables Moisissures, causes des *pseudo-tuberculoses mycosiques* ou *aspergillaires*; d'autres des œufs ou larves d'Helminthes, occasionnant les *pseudo-tuberculoses vermineuses*. Enfin des corps inertes même, irritant les tissus, peuvent provoquer autour d'eux la formation d'un véritable tubercule résultant des processus de défense de l'organisme par les cellules actives.

Les pseudo-tuberculoses des deux dernières catégories se distinguent expérimentalement de la tuberculose vraie en ce qu'elles ne sont jamais inoculables en série. Il n'en est pas de même des autres, des pseudo-tuberculoses microbiennes surtout, qui peuvent très bien présenter ce caractère important.

Pseudo-tuberculoses microbiennes.

Malassez et Vignal (1) ont décrit en 1883, sous le nom de *tuberculose zoogléique*, une maladie qu'ils avaient déterminée chez des lapins et des cobayes, par l'inoculation d'un nodule tuberculeux sous-cutané de l'avant-bras d'un enfant mort de méningite tuberculeuse, dans la matière duquel ils n'avaient pas rencontré le *Bacille de la tuberculose*. Ils obtenaient une véritable tuberculose généralisée amenant la mort de ces animaux au bout de six à dix jours. La maladie se reproduisait identique par inoculation en nouvelle série. Les lésions obtenues étaient des granulations à apparence de tubercules, au centre desquelles se trouvaient des masses irrégulières, vitreuses ou caséeuses. Ces amas, de grosseur variable, atteignant jusqu'à 6 μ de diamètre, étaient constitués par des Zooglées de *Micrococcus* sphériques ou légèrement ovales, mesurant en moyenne de 0,5 à 0,6 μ, disposés souvent par deux ou en longs chapelets onduleux et réunis entre eux par une gangue de gelée transparente. Les auteurs cités ont obtenu des cultures de ces Microcoques sur sérum sanguin, et déterminé, par inoculation de ces cultures à des cobayes et à des lapins, des résultats identiques aux premiers. Mais à la troisième génération, ils retrouvaient toujours dans les granulations le *Bacille tuberculeux*. Ils en ont conclu que les produits qui avaient servi aux expériences des débuts contenaient quelques *Bacilles tuberculeux* dont l'évolution est beaucoup plus lente que celle

(1) Malassez et Vignal, Sur le microorganisme de la T. zoogléique (*Arch. de phys.*, 1883 et 1884).

du Micrococque; le sujet avait été en butte à deux infections bien distinctes. Les coccus se colorent très bien au traitement par la solution de bleu de méthylène dans l'eau anilinée, suivie de décoloration par le carbonate de soude et l'alcool (Voy. p. 302).

Nocard (1) a donné la description d'une tuberculose zoogléique du poumon chez les poules. La maladie sévissait sur tout un poulailler. Les poumons des animaux malades étaient farcis de petites tumeurs d'apparence tuberculeuse, de la grosseur d'un grain de millet à un pois, de consistance ferme et dense. L'examen bactériologique y décela de nombreuses Zooglées semblables à celles décrites par Malassez et Vignal. Ce même observateur (2) a obtenu le développement d'une tuberculose zoogléique en inoculant à des cobayes du produit de jetage d'une vache suspecte de tuberculose ; l'inoculation au pigeon donne ici des résultats positifs.

Eberth (3) a observé deux cas de tuberculose à *Micrococcus* chez le cobaye. La *pseudo-tuberculose du lapin* (4), qu'il a décrite, rappelle en tous points l'affection déterminée par Malassez et Vignal, mais les Bactéries sont de courts bâtonnets. Il en est de même de la *pseudo-tuberculose des rongeurs* observée par Pfeiffer (5) chez des cobayes auxquels il avait inoculé des productions tuberculiformes prélevées sur un cheval suspect de morve.

Chantemesse (6) a obtenu une maladie expérimentale identique à celle de Malassez et Vignal, en introduisant dans le péritoine de cobayes, avec toutes les précautions antiseptiques voulues, des fragments d'ouate sur laquelle avaient filtré environ 100 litres d'air d'une salle d'hôpital renfermant un grand nombre de phtisiques.

Les lésions décrites par ce dernier expérimentateur ressemblent à celles obtenues par les premiers cités. C'est surtout la cavité abdominale qui est envahie. Les ganglions du mésentère montrent à leur surface de petites bosselures jaunes; les plus grosses de ces granulations ont le centre formé d'une masse opaque de pus épais. La rate et le foie sont criblés de petits nodules ressemblant à des granulations tuberculeuses. L'intestin n'a rien ; les poumons présentent des granulations semblables à celles du foie, mais moins nombreuses. Ces lésions ont, à nu et au microscope, l'aspect d'altérations tuberculeuses. En les colorant par le procédé de Malassez et Vignal, ou à l'aide de la solution alcaline de bleu de méthylène de Loeffler, leur centre se montre formé de petites masses de Micrococques semblables à ceux décrits par les premiers auteurs.

Charrin et Roger (7) ont rencontré une autre pseudo-tuberculose sur un cobaye mort spontanément : le foie et la rate étaient remplis de granulations miliaires tout à fait analogues à celles de la tuberculose. Par ensemencement dans de la gélatine ordinaire, il se développa des colonies

(1) Nocard, *Rec. de méd. vét.*, mai 1885.
(2) Nocard, T. zoogléique d'origine bovine (*Soc. de Biol.*, 9 mars 1889).
(3) Eberth, Zwei Mycosen des Meerschweinchen (*Virchow's Arch.*, C, 1885, p. 23).
(4) Eberth, Pseudo-T. des Kaninchens (*Fortschr. der Med.*, 1885, p. 179).
(5) Pfeiffer, Ueber die bacilläre Pseudotuberkulose bei Nagethieren, Leipzig, 1889.
(6) Chantemesse, La T. zoogléique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, n° 3, p. 97).
(7) Charrin et Roger, Sur une pseudo-T. bacillaire (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CVI, 1888, p. 868).

rien au contraire n'apparut dans de la gélatine glycérinée. Les colonies obtenues étaient de petite taille, blanchâtres, ne liquéfiant pas la gelée. Le microbe se développe facilement aussi sur la pomme de terre, sur la gélose et dans le bouillon.

Les cultures sur gélatine contiennent un petit Bacille mobile, n'atteignant pas 1 μ de long. Il s'allonge un peu dans le bouillon et atteint jusqu'à 2 μ et 2,5 μ sur pomme de terre. Dans les bouillons additionnés d'antiseptique, on observe de longs filaments.

Les cultures inoculées aux animaux reproduisent la maladie primitive. La maladie est très nettement inoculable en série.

Dor (1) a décrit une pseudo-tuberculose probablement identique à la précédente.

Courmont a rencontré dans des tubercules pleuraux d'une vache qui paraissait atteinte de tuberculose ordinaire, une Bactérie différente du Bacille tuberculeux de Koch, reproduisant, par inoculation au cobaye, des tubercules en tout semblables à ceux de la tuberculose proprement dite (2).

Le sang et les produits tuberculeux lui donnèrent très aisément des cultures pures de ce Bacille. Par contre, l'étude microscopique, avec les méthodes de coloration habituelles, ne décela la présence d'aucun Bacille de Koch.

Ce microbe végète très bien sur tous les milieux ordinaires, glycérinés ou non. On en obtient encore de très belles cultures à + 46°. Le bouillon se trouble en vingt-quatre heures, puis laisse déposer en vieillissant un sédiment blanc jaunâtre. La gélatine n'est pas liquéfiée; la culture forme à la surface une mince tache, irisée, à bords réguliers, et se prolonge dans la piqûre où l'on observe de petites colonies sphériques. Sur pomme de terre, il se développe une couche crémeuse couleur café.

Les cultures récentes tuent rapidement les cobayes et ne déterminent pas de tubercules; mais lorsqu'elles sont vieilles de dix-neuf jours environ, elles rendent les cobayes tuberculeux en cinq jours.

Les jeunes tubercules réinoculés à d'autres cobayes, en séries, reproduisent la maladie. Les animaux meurent dans un laps de temps qui varie de cinq à douze jours. Le microbe en question a toujours été retrouvé dans les tubercules et dans le sang du cœur, à l'exclusion de celui de Koch.

Dans les bouillons, ce microbe a la forme d'un bâtonnet court et large, deux fois plus long que large, à extrémités arrondies. Les bâtonnets sont très mobiles et ne se disposent jamais en chaînettes. Sur les milieux solides, les dimensions sont un peu moindres.

Tous les réactifs colorants donnent facilement des résultats; la décoloration du microbe se fait très vite. Les méthodes employées pour le Bacille de la tuberculose ne peuvent pas servir. Ce sont là des caractères qui rappellent bien ceux du *Colibacille*.

Pour Grancher et Ledoux-Lebard (3), toutes ces pseudo-tuberculoses

(1) Dor, Pseudo-t. bacillaire (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CVI, 1888, p. 1027).

(2) L. Courmont, Sur une T. microbienne et particulière du bœuf (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 16 mars 1889).

(3) Grancher et Ledoux-Lebard, Recherches sur la T. zoogléique (*Arch. de méd. expér.*, I, 1889, p. 203) Et : Deuxième mémoire (*Ibid.*, II, 1890, p. 589).

doivent être rapportées à la tuberculose zoogléique de Malassez et Vignal. C'est encore la même affection que ces expérimentateurs ont rencontrée chez un cobaye mort quatre ou cinq jours après avoir reçu une injection d'eau stérilisée ayant filtré sur de la terre à la surface de laquelle avait été répandu du produit de cultures sur gélose glycérinée du Bacille de Koch. Des ensemencements sur gélose glycérinée faite avec le foie ou la rate de cobayes malades donnèrent très facilement des cultures.

Zagari (1) a observé cette pseudo-tuberculose évoluant naturellement chez le cobaye.

Parietti (2) l'a obtenue en inoculant du lait à des cobayes.

Du Cazal et Vaillard (3) ont très probablement observé cette même affection chez l'homme. Le sujet présentait à l'autopsie, sur presque toute l'étendue de la séreuse péritonéale et dans le pancréas, une éruption de petits nodules spéciaux, d'aspect caséiforme, contenant des Bacilles courts se décolorant par la méthode de Gram, liquéfiant la gélatine, pathogènes pour le lapin et la souris, inoffensifs chez le cobaye, même à doses élevées. L'injection intraveineuse d'un centimètre cube d'une culture récente dans le bouillon tue le lapin en deux jours, avec des accidents septicémiques; à dose moindre, un demi-centimètre cube, il se produit, au contraire, une infection à marche chronique, caractérisée par l'apparition, en divers points du corps, de petits nodules caséiformes semblables à ceux observés sur le malade.

Legrain (4) a aussi obtenu une *pseudo-tuberculose bacillaire* chez le lapin par inoculation de crachats de phtisiques. Le microbe observé était également un court bacille se décolorant par la méthode de Gram, liquéfiant la gélatine, tuant les lapins par septicémie lorsqu'il était inoculé à fortes doses, déterminant, au contraire, une véritable pseudo-tuberculose à doses minimes.

Preicz (5) regarde la plupart de ces pseudo-tuberculoses comme identiques et produites par une même espèce microbienne; il propose de leur appliquer la dénomination de *pseudo-tuberculose des rongeurs*, déjà adoptée par Pfeiffer et Kutscher (6). Le Bacille obtenu par Du Cazal et Vaillard, puis revu par Legrain, est probablement différent de cette première espèce; il s'en distingue surtout en ce qu'il liquéfie la gélatine et n'est pas pathogène pour le cobaye. Le Bacille décrit par J. Courmont en 1889 est peut-être aussi une autre espèce, tandis que celui décrit par J. Courmont et Nicolas (7), provenant d'une vache supposée tuberculeuse, lui paraît bien identique à la première.

(1) Zagari, Sulle cosi della tuberculosa zoogleica (*Centralbl. für Bakt.*, VIII, 1890, p. 208).

(2) Parietti, Eine Form von Pseudo-Tuberkulose (*Centralbl. für Bakt.*, VIII, 1890, p. 577).

(3) Du Cazal et Vaillard, Sur une maladie parasitaire de l'homme (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V, 1891, p. 353).

(4) Legrain, *Bull. méd.*, 1891, p. 1019.

(5) Preicz, Recherches comparatives sur les pseudo-T. bacillaires (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 231).

(6) Kutscher, *Zeitschr. für Hygiene*, XVIII, 1894, p. 327.

(7) J. Courmont et Nicolas, Sur une T. strepto-bacillaire d'origine bovine (*Arch. de parasitol.*, I, 1898, p. 123).

C'est toujours la même espèce qui a été rencontrée chez le lapin par Lucet (1).

Le même Bacille a encore été signalé par Charrin et Gouget (2) chez le lapin, où il présentait une curieuse localisation à l'appendice, déterminant une appendicite pseudo-tuberculeuse (3). Il a été retrouvé chez l'homme par P. Courmont et Tixier (4) dans un cas d'arthrite hémorragique du coude.

C'est encore cette même espèce que Galavielle (5) a rencontré dans un cas de pseudo-tuberculose du chat.

Voici les principaux caractères de cette première espèce, qu'on peut dénommer *Bacille de la pseudo-tuberculose zoogléique* :

Morphologie.

Les Bacilles des jeunes cultures dans le bouillon sont des bâtonnets de 1 à 2 μ de long, à extrémités arrondies, isolés et nettement mobiles, ou, au contraire, en chaînettes et alors plus courts et immobiles. Cette disposition en chaînettes leur a fait appliquer le nom de *Streptobacilles* par Dor. Les éléments des cultures âgées ont une longueur moindre et sont souvent ovalaires. Ils prennent facilement les matières colorantes et se *décolorent* par la méthode de Gram; ils se décolorent complètement par la méthode d'Ehrlich. Les Bacilles des coupes des nodosités se colorent très difficilement.

Cultures. — Le *bouillon* est fortement troublé en dix-huit heures; il se forme des flocons blanchâtres sur les parois et au fond du vase. Au bout de quelques jours, tout se sédimente et le liquide s'éclaircit.

Sur *gélatine*, le microbe pousse à la température ordinaire; il *ne liquéfie jamais* ce milieu. En *piqûre*, il donne une culture blanchâtre, en clou, à tige peu développée. En *strie*, il se forme une traînée blanchâtre, peu épaisse.

Sur *gélose* en *strie*, on obtient une large bande, d'un blanc sale, luisante, pas visqueuse. L'addition de glycérine donne des cultures plus abondantes. Les vieilles cultures dégagent une odeur assez forte, désagréable.

Sur *sérum coagulé*, la culture est semblable à celle sur gélose, mais moins abondante.

Sur *pomme de terre*, elle est blanc jaunâtre.

Inoculation expérimentale.

L'inoculation sous-cutanée ou intrapéritonéale tue le cobaye en cinq à six jours, avec des lésions tuberculeuses, surtout développées dans le foie ou la rate. L'ingestion de cultures détermine aussi bien l'infection.

(1) Lucet, Sur un nouveau cas de T. strepto-bacillaire chez le lapin (*Arch. de parasitol.*, I, 1898, p. 100, et II, 1899, p. 127).

(2) Charrin, Une appendicite de l'animal (*Soc. de Biol.*, 27 février 1897 et 13 mars 1897). — Gouget, Pseudo-T.; localisation élective sur l'appendice (*Ibid.*, 3 avril 1897).

(3) Josué, Appendicites expérimentales par infection sanguine (*Soc. de Biol.*, 13 mars 1897).

(4) P. Courmont et Tixier, T. strepto-bacillaire (*Soc. des sc. méd. de Lyon*, 1er décembre 1897).

(5) Galavielle, Un cas de pseudo-T. chez les Félidés (*Congrès de méd. de Montpellier*, 1898). — *Id.*, Un cas de T. d'origine féline (*Soc. de Biol*, 13 mai 1898, p. 492).

Le lapin peut mourir rapidement, en quelques jours, après une inoculation intraveineuse de cultures jeunes, sans autres lésions qu'une forte hypérémie de la rate et du foie. Les cultures vieilles n'amènent la mort que beaucoup plus tard (vingt jours et plus) avec nodules tuberculeux dans le foie, la rate, l'intestin. L'injection intrapéritonéale cause la mort plus rapidement.

Dans le cas de mort rapide, on trouve dans le foie de gros amas bacillaires, de véritables Zooglées, qui se teignent en bleu foncé par le bleu de Kühne. Ces Zooglées sont formées de nombreux Bacilles, courts ou ovoïdes, unis bout à bout en longs filaments enchevêtrés; certaines occupent les capillaires des lobules, d'autres envahissent les travées hépatiques.

Après quelques passages dans l'organisme, le microbe ne forme plus de Zooglées si spéciales, mais ne pullule plus dans les tissus qu'en éléments isolés ou réunis en petit nombre.

Les pseudo-tubercules paraissent être surtout formés par des cellules migratrices. Ils peuvent contenir des amas zoogléiques ou simplement des Bacilles isolés ou en courtes chaînettes; parfois même on ne peut y rencontrer aucun microbe.

Le chien est à peu près réfractaire ; le moineau l'est complètement. Le pigeon et le rat blanc ne présentent que des lésions locales.

Ledoux-Lebard (1) signale l'agglutination très nette des cultures en bouillon, de ce Bacille pseudo-tuberculeux, en mélangeant neuf parties de bouillon de culture à une partie de sérum du sang d'un lapin pseudo-tuberculeux.

On a signalé d'autres espèces bacillaires qui possèdent aussi la propriété de produire chez les animaux des lésions tuberculeuses. Certaines présentent quelques ressemblances avec le *Bacille tuberculeux* vrai, mais peuvent quand même s'en distinguer aisément par leurs caractères de forme ou de cultures.

Preicz (2) a isolé une autre espèce bacillaire d'une pseudo-tuberculose du mouton. C'est un Bacille court et mince, immobile, se *colorant* par la méthode de Gram. Il ne pousse pas sur gélatine à la température ordinaire et végète au mieux sur sérum coagulé, où il donne de petites colonies arrondies d'une couleur jaune d'or. Il est pathogène pour le lapin et le cobaye et produit des lésions semblables à celles qu'occasionne le microbe précédemment décrit. Les pseudo-tubercules formés peuvent subir la calcification avec l'âge.

L. Rabinowitch (3) a trouvé dans le beurre un *Bacille pseudo-tuberculeux*, qui a la même forme et les mêmes propriétés tinctoriales que le *Bacille tuberculeux*, mais pousse sur tous les milieux habituels à la température ordinaire, dégage une odeur ammoniacale bien nette sur bouillon glycériné et forme de l'indol. L'injection intrapéritonéale au cobaye développe chez lui une tuberculose miliaire généralisée, dans

(1) Ledoux-Lebard, De l'action du sérum pseudo-t. sur le Bacille de la pseudo-T. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 909).

(2) Preicz, Rech. comp. sur les pseudo-T. bacillaires et une nouvelle espèce de pseudo-T. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 231).

(3) Rabinowitch, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Märktbutter (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVI, 1897, p. 90).

les lésions de laquelle on ne trouve presque pas de cellules géantes. Les animaux infectés ne réagissent pas du tout à la tuberculine. Ce Bacille n'est pathogène ni pour le lapin, ni pour la souris.

C'est probablement la même espèce que Moeller (1) a rencontrée dans des macérations de foin, et en abondance dans les selles de bovidés, de cheval, de mulet, de porc et de chèvre. Le fait est à retenir lorsqu'on veut rechercher le *Bacille tuberculeux* dans les selles.

Vallée (2) décrit une pseudo-tuberculose du veau due à un Bacille qui se colore bien par la méthode de Gram et dont les cultures reproduisent, par inoculations, des lésions identiques à celles dont il provient. Le microbe viendrait du lait, car l'alimentation au lait bouilli a suffi pour faire disparaître la maladie qui sévissait sous forme épidémique.

J. Courmont (3) a observé deux cas de pseudo-tuberculose humaine due à un Bacille voisin de celui de la pseudo-tuberculose du cobaye, s'en distinguant en ce qu'il végète abondamment sur carotte, sur artichaut et dans le lait, tandis que le Streptobacille du cobaye ne pousse pas du tout sur ces milieux.

Flexner (4) a décrit chez l'homme une pseudo-tuberculose à *Streptothrix*.

Pseudo-tuberculoses mycosiques.

On ne connaît qu'une affection de cet ordre, la *pseudo-tuberculose aspergillaire*, produite par une Moisissure commune partout, l'*Aspergillus fumigatus*, Champignon de l'ordre des Ascomycètes.

Cette Moisissure, commune sur les substances végétales altérées, forme sur bien des milieux nutritifs des taches verdâtres ou gris bleuâtre, dont la nuance est due aux nombreux appareils à spores conidiennes s'élevant du mycélium. Ces appareils, assez courts, se terminent par un renflement hémisphérique muni de nombreux petits stérigmates pointus, portant chacun une spore conidienne ronde, de 2,5 μ à 3 μ de diamètre, à parois lisses, très faiblement colorées.

L'affection présente cliniquement les caractères d'une vraie tuberculose, à marche lente, chronique. On ne l'observe que chez les individus qui font profession de *gaver* les pigeons aux marchés. Ces *gaveurs de pigeons* se remplissent la bouche d'un mélange d'eau et de grains de blé et l'insufflent dans le bec entr'ouvert des pigeons (5). L'infection vient certainement de l'absorption de spores très fréquentes sur le blé.

L'examen des crachats ne montre pas de *Bacilles de la tuberculose*, mais des filaments mycéliens et parfois des spores d'*Aspergillus fumigatus*.

Divers observateurs ont reproduit expérimentalement l'affection chez

(1) Moeller, Ein Mikroorganismus welcher sich morphologisch und tinktoriell wie der Tuberkelbacillus verhält (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1898, nº 24, p. 376).

(2) Vallée, Une nouvelle pseudo-T. (*Congrès pour l'étude de la T.*, Paris, 1898).

(3) J. Courmont, Sur les T. humaines dues à des Bacilles autres que les Bacilles de Koch (*Congrès pour la lutte contre la T.*, Berlin, 1899).

(4) Flexner, Pseudo-tuberculosis hominis streptothrica (*John's Hopkins Hospital Bulletin*, 1897, nº 75).

(5) Dieulafoy, Chantemesse et Widal, *Congrès de Berlin*, 1890, et *Gaz. des hôp.*, 1890, p. 821.

les animaux par injection intraveineuse de spores du Champignon (1). Les spores, arrivées dans le poumon ou le foie, sont rapidement entourées de leucocytes et absorbées par des cellules géantes. Elles germent et donnent de petites rosettes de mycélium pouvant rappeler la forme des nodules radiés d'*Actinomyces*, autour desquelles se forme le tubercule de la façon habituelle. Ce tubercule peut passer par les différents stades que l'on connaît, se caséifier et donner lieu à la production de cavernes. Les recherches de Kotliar font penser que le Champignon agit surtout mécaniquement, et non par formation de produits solubles actifs.

Pseudo-tuberculoses vermineuses.

Laulanié (2) a décrit une tuberculose pulmonaire du chien due à des œufs d'un Strongle, le *Strongylus vasorum*. On a aussi signalé chez le chat des tubercules du poumon produits par des œufs ou des larves des Nématodes (3). Ebstein et Nicolaier (4) ont observé, autour des larves, la formation de véritables tubercules, composés, chez le chien, de cellules épithélioïdes seules, associées avec des cellules géantes chez le chat.

BACILLUS LEPRÆ, A. Hansen.

(*Bacille de la lèpre.*)

A. Hansen (5) a signalé dans les tissus lépreux la présence d'un Bacille qu'il considérait comme spécifique. Cette même Bactérie a été étudiée par d'autres observateurs, particulièrement Neisser (6), Leloir (7), Unna (8), Babès (9), qui en ont complété l'histoire.

Dans la peau, au niveau des tubercules lépreux récents, au-dessous de l'épiderme resté normal, on trouve le derme infiltré de grosses cellules rondes remplies de Bacilles (fig. 226). On constate leur présence dans le sang, où ils sont libres ou enfermés dans les globules blancs. Ils sont nombreux dans les parties envahies, surtout dans le testicule, la rate, le foie, les ganglions lym-

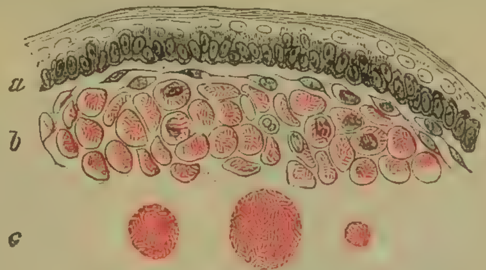


Fig. 226. — Granulome de la lèpre. *a*, épiderme ; *b*, cellules lépreuses remplies de Bacilles ; *c*, amas de Bacilles (d'après Rindfleisch).

(1) Rénon, Rech. sur la pseudo-T. aspergillaire. Thèse de Paris, 1893. — Kotliar, Contrib. à l'étude de la pseudo-T. aspergillaire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 479).

(2) Laulanié, Sur q.q. affections parasitaires du poumon et leurs rapports avec la T. (*Arch. de physiol.*, IV, 1884, p. 487).

(3) Leuckart, Die menschlichen Parasiten.

(4) Ebstein et Nicolaier, *Virchow's Arch.*, CXVIII, 1889, p. 432.

(5) Hansen, *Arch. de physiol. belges*, 1877, et *Virchow's Arch.*, LXXIX.

(6) Neisser, Histologische und bacteriologische Leprauntersuchungen (*Virchow's Arch.*, CIII, 1886).

(7) Leloir, Traité prat. et th. de la lèpre, 1886.

(8) Unna, Zur Histol. der leprösen Haut (*Monatshefte für Derm.*, 1885).

(9) Babès, Der Leprabacillus und die Histologie der Lepra, Berlin, 1898.

phatiques; Sudakewitsch (1) en a décrit dans l'intérieur des cellules nerveuses, dans des cas de lèpre anesthésique.

Morphologie.

Caractères microscopiques et coloration. — Ce sont de fins bâtonnets mesurant en moyenne de 5 μ à 6 μ de longueur, sur une largeur de moins de 1 μ, rarement droits, plus souvent légèrement courbés (fig. 227). La plupart des observateurs les considèrent comme tout à fait immobiles; Babès (2) les donne comme légèrement mobiles. Beaucoup présentent une zone gélatineuse périphérique hyaline, ne se colorant pas, une sorte de capsule. L'aspect est très semblable à celui du *Bacille de la tuberculose*; ils se colorent aussi bien que lui par la méthode d'Erhlich, mais facilement aussi avec les solutions aqueuses ordinaires, ce que ne fait pas le premier; ils *restent colorés* par la méthode de Gram. De plus, ils résistent mieux encore aux décolorants; d'après Babès, l'acide azotique au tiers ne les a pas décolorés après une heure, tandis qu'au bout de ce temps les Bacilles de la tuberculose sont toujours décolorés; d'où possibilité de distinguer facilement ces deux espèces et d'en obtenir des doubles colorations. Dans les Bacilles colorés, on observe fréquemment des vacuoles irrégulières, semblables à celles que présente le Bacille de la tuberculose. Il se forme fréquemment, surtout aux extrémités, des renflements que l'on considère comme des spores. Ces renflements, mesurant 2 μ de diamètre, sont au nombre de deux ou trois; dans le premier cas, ils sont situés aux extrémités d'un bâtonnet qui prend une forme en haltères.



Fig. 227. — Bacilles de la lèpre.

Cultures. — Neisser a décrit des cultures sur sérum sanguin coagulé, réussies en immergeant dans la surface de la gelée un fragment

(1) Sudakewitsch, Beiträge zur pathol. Anat. der Lepra, 1887.

(2) Babès, Observ. sur les Bacilles de la lèpre (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 30 avril 1883, et *Arch. de phys.*, 1883

de peau lépreuse; il obtient de minimes cultures, qui, reportées sur blanc d'œuf cuit, donnent, après trois semaines, de petites colonies proéminentes, de la grosseur d'un grain de millet, entourées d'une zone marginale hyaline.

Divers observateurs ont isolé des tissus lépreux des Bactéries diverses, donnés par certains comme *Bacille de la lèpre* vrais, par d'autres comme espèces différentes. Il semble bien que dans plusieurs cas ce soit du véritable *Bacille de la lèpre* dont la culture en milieux artificiels a pu modifier certains caractères, en particulier la réaction à l'égard des matières colorantes. Il est encore nécessaire d'avoir confirmation de ces données, la preuve expérimentale n'ayant pas encore été donnée jusqu'ici pour la raison qu'on n'a pas encore réussi d'inoculation de èpre chez les animaux. Spronck, toutefois, a fait avancer la question dans le sens de l'affirmative en constatant l'action agglutinante réelle et constante du sérum de lépreux sur le Bacille qu'il a isolé et qui paraît semblable à ceux obtenus dans les mêmes conditions par Bordoni-Uffreduzzi, Babès, Lévy et Czaplewski.

Bordoni-Uffreduzzi (1) a obtenu des cultures en usant des milieux glycérinés qui donnent de si bons résultats pour le *Bacille de la tuberculose.*

D'après cet observateur, la culture du *Bacillus lepræ* est très lente comme pour l'espèce précédente, elle ne se fait qu'à une température élevée, au mieux à 37-38 degrés.

Sur sérum glycériné et peptonisé à 37°, il se forme lentement une colonie rubanée, à bords sinueux, de teinte légèrement jaunâtre. Le milieu n'est jamais liquéfié. Lorsqu'il existe du liquide dans la partie déclive du tube, la culture s'y développe un peu en laissant le liquide clair.

Sur gélose glycérinée, à 37°, il se développe, le long de la strie, de petites colonies rondes, grisâtres, à bords dentés, pouvant confluer après un temps très long. Il peut se produire une colonie compacte, comme la précédente, lorsqu'on se sert d'une grande quantité de substance d'inoculation.

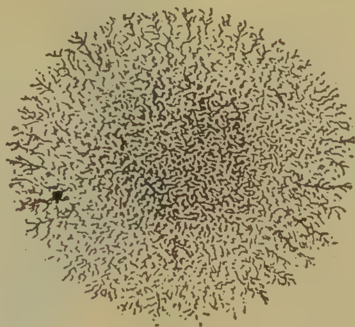


Fig. 228. — Colonne de *Bacille de la lèpre*, développée sur plaques de gélose 200/1 (d'après Bordoni).

Sur plaques de gélose glycérinée, on obtient à 37° de petites taches floconneuses, arrondies, grisâtres, plus compactes au centre, formées de filaments sinueux disposés en fins réseaux (fig. 228).

Des premières cultures ne se développent jamais sur gélatine ou sur pomme de terre; celles des générations suivantes y croissent. Il se forme sur gélatine, de 20 à 25°, de petites colonies rondes isolées, à la surface et dans le canal de piqûre. La gelée ne semble pas être liquéfiée.

Ducrey (2) dit avoir obtenu des cultures sur gélose glucosée. En ensemençant des produits lépreux en piqûre profonde, il a observé le déve-

(1) Bordoni-Uffreduzzi, Ueber die Cultur der Leprabacillen (*Zeitschr. für Hygiene*, III, 1re p., p. 178).
(2) Ducrey, *Giorn. ital. delle mal. vener. e della pelle*, 1892.

loppement de petites colonies punctiformes, blanchâtres, le long du trajet de la piqûre, jusqu'à 2 ou 3 centimètres de la surface. Ces colonies peuvent se cultiver dans le bouillon à l'abri de l'air; elles y forment un voile fragile. Ce serait une Bactérie anaérobie, bien différente dès lors de la forme décrite par Bordoni-Uffreduzzi et ne paraissant avoir aucun rapport avec le *Bacille de la lèpre*.

Babès (1) obtint, en 1890, des cultures sur sérum et sur gélose et signale pour les Bacilles la perte de la faculté de rester colorés par la méthode d'Ehrlich. Il constate les ressemblances de Bacilles de ces cultures avec le *Bacille de la diphtérie*, le *Bacille pseudo-diphtérique* et le *Bacille du xérosis*.

C'est très probablement le même Microbe que Lévy (2) décrit comme espèce nouvelle, voisine du *Bacille tuberculeux* et présentant certaines ressemblances avec l'*Actinomyces* et les *Streptothrix*.

Czaplewski (3), en ensemençant sur sérum coagulé de la sécrétion morveuse et du raclage d'une nodosité pharyngienne ulcérée d'un lépreux, obtint, parmi de nombreuses colonies de *Staphylocoque doré* et de *Bacille de Friedlaender*, de petites colonies d'un gris jaunâtre, irrégulièrement arrondies, constituées par un fin Bacille sinueux, rappelant par l'aspect et les dimensions le *Bacille de la lèpre*.



Fig. 229. — Bacilles de la lèpre; culture d'un jour sur sérum de Loeffler. 1000/1 (d'après Czaplewski).

Ce microbe se cultive facilement sur tous les milieux habituels, sauf sur pomme de terre. Le sérum de Loeffler lui est particulièrement favo-

(1) Babès, *in* Cornil et Babès, Les Bactéries, 1890. — Ueber die Kultur der von mir bei Lepra gefundenen Diphteridic (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1897, p. 125).

(2) Levy, Ein neues um einem Fall von Lepra gezüchtetes Bakterium aus der Klasse der Tuberkelbacillen (*Arch. für Hygiene*, XXX, 1897, p. 168).

(3) Czaplewski, Ueber einen aus einem Leprafalle gezuchteten alcohol-und säurefesten Bacillus aus der Tuberkelbacillengruppe (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 97 et 189).

rable. L'addition de glycérine au sérum et à la gélose est une très bonne condition. La gélatine n'est pas liquéfiée. Le bouillon est à peine troublé et ne donne qu'un minime dépôt pulvérulent.

Les Bacilles jeunes se colorent très bien aux colorants ordinaires, difficilement toutefois au bleu de méthyle. Ils restent colorés par la méthode de Gram. Ils présentent une certaine résistance à la décoloration par l'alcool et les acides minéraux, mais cette résistance est moins forte que celle du *Bacille de la tuberculose*. La forme et les dimensions de ces Bacilles de jeunes cultures sont assez régulières (fig. 229).

Dans les cultures vieilles, les Bacilles sont granuleux, se colorent mal et irrégulièrement; le corps des éléments présente souvent des renflements et des étranglements alternatifs irréguliers, rappelant ce qui se voit souvent avec le *Bacille tuberculeux*, l'aspect auquel Unna a donné le nom de *Coccothrix* (fig. 230). Ces vieux Bacilles se colorent souvent comme les *Bacilles de la diphtérie* à la coloration de Neisser. Ils se décolorent plus facilement que les Bacilles jeunes.



Fig. 230. — Bacilles de la lèpre ; culture de vingt-trois jours sur sérum de Loeffler. 1000/1 (d'après Czaplewski).

Dans le bouillon, ce microbe montre de nombreuses formes d'involution. On trouve des éléments renflés au milieu ou à une extrémité, de véritables sphères ; certains sont en Y ou sont réellement ramifiés.

En aucun cas, quels que soient l'animal et le mode d'inoculation employés, Czaplewski n'a pu constater d'action pathogène.

Spronck (1) a obtenu des résultats plus complets que les précédents. Il a obtenu des premières cultures en ensemençant des pommes de terre glycérinées et neutralisées avec du tissu broyé de tubercules lépreux non ulcérés et avec de la moelle osseuse de lépreux.

(1) Spronck, La culture du Bacille de Hansen et le séro-diagnostic de la lèpre (*Sem. méd.*, 28 sept. 1898).

Les colonies ne s'aperçoivent qu'au bout de dix jours, à 38°. Elles restent très petites ; il faut un examen minutieux pour les trouver. Ce sont de petites colonies d'un jaune pâle, situées autour des parcelles de matière d'ensemencement. Elles sont formées de bâtonnets un peu plus gros et un peu plus longs que ceux des lésions lépreuses, se décolorant plus rapidement à la méthode d'Ehrlich, rappelant comme forme et arrangement le *Bacille de la diphtérie* et le *Bacille pseudo-diphtérique*.

Ces colonies se réensemencent facilement sur divers milieux, mais pas du tout sur pommes de terre, même identiques aux premières. L'addition de 5 p. 100 de glycérine ou 2 p. 100 de glucose favorise un peu le développement. Il n'y a pas de croissance à la température de la chambre ; la végétation commence vers 25°, elle est abondante à 37 degrés.

Les cultures sur sérum sont jaunâtres. Celles sur gélose toujours incolores, arrondies, mais à contours irréguliers d'où partent des arborisations ; elles présentent souvent des granulations disséminées rappelant celles des colonies du *Spirille du choléra* sur plaques de gélatine.

Il n'y a pas ou presque pas de végétation dans les bouillons de viande ou les sérums liquides. Par contre, le bouillon de poisson, de cabillaud ou de turbot, par exemple, est un excellent milieu ; il s'y forme un précipité visqueux, filamenteux, adhérant aux parois du vase. La décoction de levure, le lait, sont également de bons milieux.

Les colonies se développent, mais moins abondamment, dans une atmosphère privée d'oxygène.

Les Bacilles de ces cultures sont immobiles et ne semblent pas donner de spores.

Ces cultures n'ont montré de pouvoir pathogène pour aucun des animaux d'expérience.

Lorsqu'on traite une culture sur gélose par la liqueur de Flemming, elle ne noircit pas, mais devient tout au plus légèrement brunâtre. Ce fait indique que dans ces cultures il ne se forme pas ou très peu de matière grasse ou cireuse, qui, comme pour le *Bacille de la tuberculose*, donne au *Bacille de la lèpre* ses réactions colorantes spéciales, et concorde avec la faible résistance à la décoloration signalée chez tous les Bacilles de ces cultures artificielles par la plupart des observateurs qui en ont obtenu.

Spronck signale le fait intéressant de l'agglutination des Bacilles de ces cultures par le sérum sanguin de sujets lépreux ; dans ces cas, le pouvoir agglutinant est compris entre 70 et 1 000, rarement au-dessous, jamais au-dessous de 30. Chez les sujets non lépreux, l'agglutination s'observe également, mais à un taux d'ordinaire inférieur à 1 pour 20 et jamais au delà de 1 pour 30. Ce fait d'agglutination par le sérum de lépreux plaide en faveur de l'identification du Bacille en question avec le *Bacille de la lèpre*.

Teich (1) a obtenu des cultures semblables à celles de Spronck, et conclut à l'identité des espèces cultivées par les observateurs précédents en admettant que le polymorphisme est dû aux conditions de culture. Pour lui, toutes sont du véritable *Bacille de la lèpre*.

(1) Teich, Beiträge zur Kultur der Leprabacillen (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 756).

Inoculation expérimentale.

Melcher et Orthmann (1) ont obtenu, par inoculation intra-oculaire de produits lépreux au lapin, une généralisation rappelant la tuberculose miliaire. Damsch (2) et plusieurs autres (3) n'ont guère été plus heureux. Tedeschi (4) aurait observé la mort au bout de six jours, chez un singe, après inoculation intracranienne de produits lépreux ; l'exsudat des méninges, la moelle épinière, la rate contiennent de nombreux *Bacilles de la lèpre*. Il se pourrait que divers expérimentateurs aient inoculé, sans s'en apercevoir, du *Bacille de la tuberculose*, la tuberculose venant souvent compliquer la lèpre à une période avancée de la maladie.

Les cultures obtenues jusqu'ici n'ont montré aucun pouvoir pathogène.

Habitat et rôle étiologique.

Le Bacille se trouve en grande quantité dans les lésions lépreuses, comme il a été dit ci-dessus. C'est le système lymphatique qui paraît être son habitat préféré. On le trouve d'ordinaire en grande abondance dans la rate et dans la moelle des os.

Dans les organes d'individus lépreux, les Bacilles se trouvent dans les cellules ou hors des cellules (5). Dans le foie, ils se rencontrent en grand nombre dans les espaces lymphatiques et dans les vaisseaux lymphatiques du tissu conjonctif interlobulaire; dans la rate, ils se trouvent de préférence dans le réseau conjonctif. On constate assez fréquemment la présence de ces Bacilles dans le sang (6). La dissémination dans le corps se fait donc à la fois par les vaisseaux lymphatiques et par les vaisseaux sanguins.

Le caractère contagieux de la maladie est tout à fait hors de doute; elle se transmet d'homme à homme, mais lorsqu'il existe probablement des conditions de réceptivité encore très peu connues, parmi lesquelles la misère sociale, l'alimentation défectueuse, le défaut de soins doivent jouer un grand rôle (7).

On a recherché en vain le *Bacille de la lèpre* dans l'air, dans l'eau, dans différentes substances alimentaires de pays où la maladie est endémique, la Norvège et certaines contrées d'Orient.

Recherche et diagnostic.

Ici le diagnostic bactériologique est important pour établir la nature d'une affection si polymorphe à notre époque. Pour les lésions cutanées, il faut prélever un fragment de peau, en faire des coupes, et les soumettre aux réactions de coloration; on peut faire également des frottis sur lamelles avec les produits suspects.

(1) Melcher et Orthmann, Uebertragung von Lepra auf Kaninchen (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1885).

(2) Damsch, Uebertragungsversuche von Lepra auf Thiere (*Virchow's Arch.*, XCII).

(3) Wolters, Der Bacillus leprae ; zusammenfassender Bericht (*Centralbl. für Bakt.*, XIII, 1893, p. 469).

(4) Tedeschi, Ueber die Uebertragung der Lepra auf Thiere (*Centralbl. für Bakt.*, XIV, 1893, p. 113).

(5) Muschold, Lepra in Leber und Milz (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, XIV, 1898, p. 71).

(6) Stephan, Ueber den Nachweiss der Leprabacillen im Blute bei Lepra anaesthetica. Thèse de Strasbourg, 1896.

(7) Zambaco, De la lèpre observée à Constantinople, 1885.

La distinction avec le *Bacille de la tuberculose* se fera facilement en ce que le *Bacille de la lèpre* se colore vite, en quelques minutes, par les solutions ordinaires et par la méthode de Gram, tandis que le premier ne se colore pas ou seulement après un long séjour dans les bains en question.

Le *séro-diagnostic* peut, d'après Spronck, donner de bonnes indications dans les conditions citées plus haut.

BACILLUS MALLEI Loeffler.

(*Bacille de la morve.*)

Atlas de microbiologie, pl. XV.

La morve est une affection contagieuse à un haut degré qui sévit sur les chevaux, les ânes et les mulets. Elle y est incurable et le plus souvent mortelle. Elle est caractérisée par des lésions viscérales importantes, des nodules spéciaux qui se forment surtout dans la rate et dans les poumons, des abcès métastatiques dans divers organes, souvent les testicules. Ce n'est que plus tard qu'apparaissent l'induration des ganglions lymphatiques, la *glande*, et l'inflammation ulcéreuse, *chancre*, de la muqueuse pituitaire, cause du *jetage* visqueux et gluant. L'affection peut avoir une marche lente, chronique, en présentant les mêmes symptômes. Lorsque les lésions apparentes sont localisées à la peau, on lui donne le nom de *farcin*.

La présence de Bactéries, dans le pus et le suc des glandes vasculaires sanguines, a été reconnue avec certitude par Christot et Kiener (1), qui ont décrit des *Micrococcus* et des bâtonnets mobiles de 2 à 10 μ de long. Mais l'origine bactérienne de la maladie n'a été véritablement démontrée que par les travaux de Bouchard, Capitan et Charrin (2) qui, en 1881, ont obtenu du pus d'abcès d'un homme atteint de morve, des cultures dans du bouillon ayant déterminé chez les cobayes et chez un âne l'apparition des symptômes de la morve. L'année suivante, ces mêmes expérimentateurs arrivaient à des résultats aussi favorables en usant de pus et de jetage d'un cheval morveux. Des cinquième et sixième cultures ont fait périr deux ânes de la morve aiguë typique.

Loeffler et Schütz (3) énonçaient peu après des conclusions identiques t étaient parvenus à isoler d'une façon certaine la Bactérie pathogène, que Bouchard, Capitan et Charrin paraissent n'avoir pas eue, à ce moment-là, en cultures pures. Les caractères spécifiques ont dès lors été minutieusement établis dans des travaux de Kitt (4), Weichselbaum (5) et surtout dans un beau mémoire plus récent de Loeffler (6) où on trouvera tous les détails relatifs à la morve expérimentale.

(1) Christot et Kiener, *C. R. de l'Acad. des sc.*, LXVIII, 1878, p. 1054, et *Rec. de méd. vétér.*, 1868, p. 93.

(2) Bouchard, Capitan et Charrin, Sur la culture du microbe de la morve et sur la transmission de la maladie à l'aide des liquides de culture (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 27 décembre 1882). Voy. surtout le rapport de Bouley, *Ibid.*, 1883, p. 1239.

(3) Loeffler et Schutz, Ueber den Rotzpilz (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1888, nº 52).

(4) Kitt, Versuche über den Züchtung der Rotzpilzer (*Jahresb. der München. Thierartz.*, 1883, 1884).

(5) Weichselbaum, Zur Aetiologie der Rotzkrankeit des Menschen (*Wiener med. Wochenschr.*, 1885).

(6) Loeffler, Die Aetiologie der Rotzkrankheit (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, p. 41, 1886).

Morphologie.

Les *Bacilles de la morve* se rencontrent dans les sécrétions pathologiques des animaux atteints, pus et jetage surtout; ils sont très abondants dans les nodules qui s'observent à l'autopsie, surtout dans les poumons et dans la rate, ressemblant de prime abord à des granulations tuberculeuses.

Pour Rudenko (1), ils montrent une véritable élection pour les ganglions lymphatiques. On les y trouve, dans tous les cas de morve, aiguë ou chronique, souvent vingt-quatre heures à peine après l'infection.

Caractères microscopiques. — Ce sont des bâtonnets mesurant de 2 μ à 5 μ de long et de 0,5 μ à 1 μ de large, de la grandeur des *Bacilles tuberculeux*, mais un peu plus épais (fig. 231); ils sont droits ou légèrement courbes et présentent une mobilité bien nette.



Fig. 231. — *Bacilles de la morve.* D'une culture sur pomme de terre glycérinée et légèrement caféinée, âgée de six jours. 1000/1.

Ces formes, que l'on peut appeler formes moyennes, sont toutefois sujettes à de grandes variations qui paraissent dépendre du milieu où végète le microbe, la nature et l'âge de la culture ou l'espèce animale inoculée.

Dans les cultures en bouillon ordinaire et dans les cultures sur pomme de terre âgées, les bâtonnets sont beaucoup plus courts, ressemblent même parfois presque à des Microcoques (fig. 232).

D'autres fois, on trouve de longs filaments, simples ou renflés en massue à une extrémité, parfois aux deux, des formes ovoïdes ou piriformes; dans certains cas, on observe même la production de véritables

(1) Rudenko, Bacteriolog. Untersuchung der Halslymphdrüsen von Rotzkranken Pferden. Charkow, 1889.

ramifications latérales, ce qui a fait rapprocher ces espèces des *Cladothrix* ou *Streptothrix* (1).



Fig. 232. — *Bacilles de la morve.* D'une culture sur pomme de terre ordinaire, âgée de vingt jours.

Le contenu des éléments est homogène ou formé de grains de grosseur variable, pouvant même donner l'illusion de Streptocoques.

Coloration. — Ils se colorent par les procédés habituels, mais inégalement et souvent d'une façon peu intense; les méthodes à préférer sont la coloration au bleu de Loeffler ou de Kühne, la fuchsine de Ziehl, la thionine phéniquée ou la coloration à l'eau anilinée additionnée de violet de gentiane à laquelle on ajoute une très faible quantité de solution de potasse ou d'ammoniaque. La méthode de Crouch pour le *Bacille de la diphtérie* colore souvent, mais plus lentement ici, des grains plus ou moins volumineux dans le contenu bacillaire. Ils se *décolorent* par la méthode de Gram et très régulièrement par la méthode de Claudius.

D'après Kühne (2), on arrive aisément à les reconnaître dans les nodules spéciaux, en traitant les coupes de la façon suivante : Avant la coloration, les coupes sont privées d'alcool par un séjour dans l'eau. Puis on les porte pendant trois ou quatre minutes dans un bain de bleu de méthylène phéniqué (eau, 100; acide phénique, 5; alcool, 10; bleu de méthylène, 1,5). On décolore par un passage rapide dans l'eau acidulée à l'acide chlorhydrique et on lave à fond l'eau distillée. La préparation est déshydratée par une courte immersion dans l'alcool, puis dans

(1) Marx, Zur Morphologie des Rotzbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 274). — Galli-Valerio, Contribution à l'étude de la morphologie du *Bacillus mallei* (*Centralbl. für Bakt.*, XXVI, 1899, p. 177). — Lubarsch, Zur Kenntniss der Strahlenpilze (*Zeitschr. für Hygiene*, XXXI, 1899, p. 213).

(2) Kuhne, Ueber Färbung der Bacillen in Malleusknoten (*Fortschr. der Med.*, 1888, p. 860).

l'huile d'aniline, et montée dans le baume. Les Bacilles sont bien colorés; les éléments des tissus ont une nuance très pâle.

Cultures. — Les cultures s'obtiennent facilement; elles ne se font pas d'ordinaire au-dessous de 20°, très peu au-dessous de 25°, sauf sur la gélose glycérinée de Nocard et Roux, qui est un milieu très favorable pour cette espèce. L'optimum de température est placé vers 37°; le développement s'arrête à 43°; les cultures meurent à 55 degrés. Elles ne se font bien qu'en présence d'air; d'après Marx, cependant, le *Bacillus mallei* pousserait ainsi en anaérobie.

Bouillon. — Le développement est très rapide à 37°; le liquide est déjà trouble en vingt-quatre heures. La culture ne présente rien de spécial; elle reste toujours peu abondante et montre un dépôt blanchâtre, visqueux.

Gélatine. — Dans la gélatine maintenue fondue à 37°, il se forme une masse floconneuse, blanchâtre, visqueuse.

Gélose. — Sur *gélose glycérinée* à 37°, d'après Kranzfeld (1), le développement est très abondant. Le deuxième jour il s'est produit, le long de la strie, une bande large de 2 à 3 millimètres, d'un blanc mat, à bords souvent translucides, qui atteint 7 à 8 millimètres en six à huit jours. La végétation sur ce milieu se fait aussi à la température ordinaire, mais un peu plus lentement.

Sérum. — Sur sérum à 37°, on obtient des gouttelettes transparentes, un peu jaunâtres, ou une très mince couche jaunâtre.

Pomme de terre. — Les cultures sur pomme de terre sont tout à fait caractéristiques. Au deuxième jour, on aperçoit sur la surface de section une couche mince, légèrement jaunâtre, transparente; le lendemain la couche devient uniforme, plus foncée, d'aspect ambré. Au bout de six à huit jours, cette culture ambrée, transparente, devient opaque et prend une teinte brun rougeâtre. Une zone de substance environnante de la pomme de terre gagne une faible nuance verdâtre. Cette forme de culture est très constante; et on l'obtient toujours, quels que soient la provenance et l'âge de la matière qui sert à l'inoculation. Elle peut être considérée comme caractéristique; la culture du *Bacille du pus bleu* a un aspect semblable, mais elle ressemble bien moins à l'ambre jaune et les cultures âgées de quelques jours ont un reflet nacré; enfin, dans les cas douteux, en traitant par de l'eau ammoniacale, on obtient la coloration bleue de la pyocyanine.

Nous avons rencontré dans du pus d'un jetage morveux, à côté du *Bacille de la morve*, la forme décrite par Babès sous le nom d'*Ascobacterium luteum*, qui sera décrite plus loin. La culture sur pomme de terre de ce dernier microbe, jaune un peu ambré, peut en imposer pour celle de la morve et faire commettre une erreur de diagnostic. L'examen microscopique, montrant les courts bâtonnets réunis en grand nombre dans une même capsule, fera aisément reconnaître l'*Ascobacterium*.

Sur *pomme de terre glycérinée*, la culture est plus rapide et beaucoup plus abondante; sa coloration est d'un jaune saumoné.

Carotte. — On n'y remarque pas de culture visible, mais en raclant la surface on enlève une mince couche muqueuse formée de bâtonnets plus fins que sur les milieux habituels.

(1) Kranzfeld, Zur Kenntniss der Rotzbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, II, 1887, n° 10).

Salsifis glycérinés. — Le Bacille y pousse très abondamment; la culture gris jaunâtre, pultacée, recouvre tout le milieu en quelques jours. Les bâtonnets y sont aussi très fins.

Lait. — Le lait est coagulé en dix à douze jours, mais il ne se produit pas de peptonisation de la caséine.

Propriétés biologiques.

Vitalité et virulence. — Ces cultures, celles sur pomme de terre entre autres, sont virulentes tout comme les produits pathologiques recueillis sur les animaux malades; aussi ne doit-on les manier qu'avec *une extrême prudence et de grandes précautions.*

L'inoculation aux animaux réceptifs, particulièrement au cobaye et à la souris de champ, détermine les symptômes de la morve expérimentale. Cependant les produits de cultures, pas plus du reste que le virus pris sur l'animal malade, ne conservent bien longtemps leur virulence et même la propriété végétative; une culture vieille d'un mois peut ne plus donner de résultats à l'ensemencement. Le virus perd son activité par la dessiccation entre quelques jours et trois mois, suivant les conditions de l'expérience; Loeffler donne, à ce point de vue, quatre mois comme un terme absolu.

Les cultures périssent après quelques semaines; leur virulence diminue vite et a souvent disparu après une dizaine de jours. La virulence peut s'exalter par des inoculations en série.

Les cultures sont détruites par une température de 55° prolongée pendant cinq minutes ou de 61° pendant une minute. Ce fait plaide fort en faveur de l'absence de formation de spores.

Action des antiseptiques. — Des recherches précises sur l'action des antiseptiques ont été faites par Loeffler, Nocard (1), Cadéac et Malet. Quelques résultats sont intéressants à connaître. L'acide phénique à 3,5 p. 100 détruit la virulence en cinq minutes; à 1 p. 100, il la respecte même après une demi-heure de contact. Le permanganate de potasse à 1 p. 100, l'hypochlorite de chaux à 23 p. 100, le sublimé à 1 p. 5 000 la détruisent en deux minutes; le crésyl, la créoline, le lysol à 3 p. 100 en quelques minutes. L'eau de chaux, le sulfate de cuivre à 1 p. 10, le sulfate de fer à 1 p. 5, l'acide sulfurique à 2 p. 100 la détruisent après une heure. L'acide sulfureux est un bon désinfectant également (50 grammes de soufre par mètre cube). Par contre, le sulfate de zinc, recommandé par le règlement de police sanitaire pour la désinfection des locaux, est absolument inactif.

Produits formés dans les cultures. — La nature des produits solubles formés par cette espèce est encore très peu connue; certains auteurs signalent des traces d'*indol.*

Il semble qu'il y ait parmi ces produits des toxines auxquelles on peut rapporter certains des symptômes de l'infection morveuse, entre autres la fièvre, la leucocytose intense, l'œdème par action vaso-paralysante.

Le produit connu sous le nom de *malléine* renferme certaines de ces

(1) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux, p. 640 et suiv.

substances actives. Préparé d'abord par les vétérinaires russes Helman et Kalning, il a été étudié en France par Roux et Nocard et a pris, à la suite des recherches de ce dernier savant, une importance considérable pour le diagnostic de la morve. Le mode de préparation utilisé par les savants français est le suivant : On met en culture, dans du bouillon glycériné, un *Bacille morveux* très virulent. Après un mois de séjour à l'étuve, les cultures sont stérilisées à l'autoclave, par un chauffage de trente minutes à 100°, puis concentrées au bain-marie jusqu'au dixième du volume primitif et filtrées sur papier Chardin ; le liquide brun rougeâtre, sirupeux, obtenu, est la *malléine brute*.

Cette malléine est employée soit pure, soit plutôt après dilution au dixième dans l'eau phéniquée à 5 p. 1000.

L'inoculation sous-cutanée de un demi-centimètre cube de malléine ne produit à peu près rien chez le cheval sain ou atteint de toute autre affection que la morve. Chez le cheval morveux, au contraire, quel que soit le peu d'étendue des lésions, il se produit des phénomènes de réaction très nets, même avec un quart de centimètre cube de malléine ; il se forme, au point d'inoculation, un œdème inflammatoire volumineux, douloureux, d'où partent des cordons sinueux se rendant aux ganglions voisins ; cette tumeur persiste pendant plusieurs jours et ne disparaît qu'après cinq à six jours. En même temps, l'état général est profondément modifié, l'animal est dans un grand état de prostration ; la température centrale s'élève graduellement de 1°,5, 2°, même 2°,5, 3° au-dessus de la normale. Cette hyperthermie, déjà notable huit heures après l'injection, atteint d'ordinaire son maximum de la dixième à la douzième heure, rarement vers la quinzième ou la dix-huitième. La température ne descend que lentement et n'est revenue à la normale qu'après deux ou trois jours. Ces symptômes sont de la plus haute importance pour le diagnostic de la morve, comme nous le verrons plus loin.

Inoculation expérimentale.

Un certain nombre d'espèces animales peuvent contracter la morve expérimentale à la suite d'inoculations sous-cutanées ou intrapéritonéales, ou même d'ingestion de produits virulents.

Les *équidés* sont particulièrement réceptifs, l'âne en première ligne, le mulet et le cheval ensuite ; la morve de l'âne affecte ordinairement le type aigu, celle du mulet et du cheval le type subaigu ou chronique.

Le *mouton* et la *chèvre* sont infectés assez facilement.

Le *chien* offre surtout des accidents locaux, des ulcères morveux où le Bacille spécifique se rencontre vite et facilement. La mort ne survient guère que chez les jeunes chiens avec des généralisations viscérales ; on arrive au même résultat chez l'adulte en inoculant des doses massives.

Le *chat* est très sensible ; il présente une ulcération locale en quelques jours et meurt après deux à quatre semaines avec des généralisations viscérales.

Chez le *lapin*, l'infection s'obtient plus difficilement et se borne souvent à un processus local ; les injections intraveineuses à fortes doses déterminent plus souvent la généralisation et la mort.

Chez le *cobaye*, la morve développée à la suite d'inoculation est facile à reconnaître ; le fait est important, surtout à cause de l'appoint qu'on

en peut tirer dans le diagnostic de la morve du cheval dans les cas incertains, à durée longue, qui sont souvent à craindre à cause de la facilité de la contagion à l'homme. On inocule du bouillon de culture, ou des produits ou du jetage dilués dans de l'eau bouillie ; on passe sur un linge et on injecte de 1 à 3 centimètres cubes sous la peau de la cuisse. Le cobaye inoculé meurt d'ordinaire du vingt-cinquième au cinquantième jour en présentant des abcès dans les testicules et de nombreux nodules spéciaux dans la rate, quelquefois de très petits dans le foie ; on trouve dans le pus des abcès et dans le contenu de ces nodules des Bacilles, faciles à reconnaître à leur forme et à l'aspect de leurs cultures. La muqueuse nasale est recouverte en partie ou en totalité d'une masse muqueuse blanchâtre, renfermant de nombreux Bacilles. Au point d'inoculation, on peut observer un œdème peu étendu ou une ulcération morveuse.

L'inoculation intrapéritonéale donne des résultats plus rapides et plus nets ; Straus (1) la conseille comme moyen de diagnostic rapide. On injecte à plusieurs cobayes mâles, dans le péritoine, selon la technique ordinaire (p. 280), 1 ou 2 centimètres cubes de la dilution préparée comme ci-dessus. L'inoculation est suivie, dès le deuxième ou le troisième jour, d'un gonflement douloureux des testicules ; la peau du scrotum est rouge, tendue ; souvent elle s'ouvre et donne issue à du pus morveux. L'animal meurt en huit à quinze jours. A l'autopsie, on trouve une inflammation de la tunique vaginale qui est recouverte de granulations jaunâtres et souvent d'un exsudat purulent, riche en Bacilles ; c'est une véritable vaginalite morveuse. Avec des produits de cultures très virulents, la dose à injecter pour observer ces symptômes doit être réduite à quelques gouttes ; l'inoculation de fortes doses détermine une mort rapide, en deux ou trois jours, par une véritable *septicémie* morveuse.

La *souris des champs* est très sensible à la morve ; elle succombe en deux à huit jours après l'inoculation, avec des lésions viscérales étendues ; la rate en particulier est très hypertrophiée.

Le *spermophile* est très sensible à la morve. Gamaléia (2) le donne comme très favorable à l'exaltation de la virulence par inoculation en série ; le Bacille exalté tue en deux ou trois jours d'une véritable *septicémie morveuse*.

Les *bovidés* sont tout à fait réfractaires.

Le *porc* est au moins très résistant ; il ne peut prendre la morve que quand il est très affaibli.

La *souris blanche*, les *rats* sont absolument réfractaires, à l'état normal au moins.

Les *oiseaux* ne paraissent pas pouvoir contracter la morve.

Chez la *grenouille* inoculée, maintenue à 30°, on trouve, au bout d'une huitaine de jours, le *Bacille de la morve* en grande quantité dans le sang et tous les organes.

Le passage en série, chez les animaux réceptifs, lapin, cobaye, spermophile surtout, exalte singulièrement l'activité d'un virus, si l'on a soin d'inoculer, aussitôt la mort, le sang du cœur d'un individu dans les

(1) Straus, Sur un moyen de diagnostic rapide de la morve (*Arch. de méd. expér.*, 1886).

(2) Gamaléia, Sur l'exaltation de la virulence du Bacille morveux (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, p. 103).

veines d'un autre. Après un certain nombre de passages, on obtient un virus d'une force très grande qui, par inoculation, ne détermine plus les symptômes morveux ordinaires, mais tue rapidement l'animal avec les symptômes d'une véritable septicémie.

L'homme paraît très sensible à l'inoculation de cultures virulentes, comme le prouvent déjà de funestes accidents de laboratoire (1) ; aussi ne peut-on recommander trop souvent de ne manier les cultures morveuses et produits virulents qu'avec une extrême prudence et en prenant des soins qui paraîtront même excessifs.

Immunité et sérothérapie.

On n'a encore que très peu de données sur l'immunité conférée par des atteintes faibles de la maladie, ou par des procédés artificiels. Galtier (2) a cependant remarqué que le chien, qui ne présente que des accidents localisés au point d'inoculation, peut contracter jusqu'à cinq fois cette affection, mais en offrant des symptômes de moins en moins marqués. Straus (3) a obtenu chez le chien, par inoculation intraveineuse de très faibles doses de cultures virulentes, une morve bénigne qui assure à l'animal une véritable immunité à l'égard d'injections intraveineuses de doses massives de cultures très actives.

Chenot et Picq disent avoir obtenu une certaine immunité et même des effets curatifs chez le cobaye à la suite d'injections de sérum de bovidés à doses massives.

La malléine ne possède aucune propriété immunisante (Nocard).

L'immunité des bovidés à l'égard de la morve a donné l'idée d'utiliser leur sérum dans un but thérapeutique. La question est encore à l'étude.

Habitat et rôle étiologique.

La morve contractée *naturellement* n'a été presque exclusivement observée que chez les équidés.

Elle se développe chez l'homme par contagion directe venant d'habitude du cheval ; aussi s'observe-t-elle surtout chez les individus que leur profession rapproche des chevaux, ânes ou mulets. Elle se présente à l'état aigu, subaigu ou chronique, ces deux derniers analogues au farcin des équidés (4). C'est une maladie ordinairement mortelle.

On a observé de ces mêmes cas de contagion chez la chèvre, le mouton, en contact avec des équidés morveux ; chez le chien et d'autres carnassiers nourris avec des viandes morveuses.

Le pus des ulcérations, le jetage, le contenu des tubercules morveux contiennent le Bacille en abondance. Chez le cheval, le sang n'est virulent qu'exceptionnellement ; chez l'homme et surtout le chat, il le serait

(1) Trofincoff, Infection mortelle par la morve au laboratoire (An. in *Revue d'hygiène*, 1897, p. 84).

(2) Galtier, Inoculation de la morve au chien (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCII, 1888, p. 303).

(3) Straus, Essais de vaccination contre la morve (*Arch. de méd. expér.*, I, 1889, p. 489).

(4) Rémy, Morve chronique de l'homme (*Arch. de méd. expér.*, 1897, p. 144). — Buscke, Ueber chronischen Rotz der menschlichen Haut (*Arch. für Dermat.*, XXXVI).

souvent. L'urine renferme parfois des Bacilles. Le lait, la bile, le sperme, ne sont virulents que s'ils ont été souillés par contact direct.

La contagion provient de la pénétration dans l'organisme de produits morveux. L'air expiré par les animaux malades n'est pas virulent, d'après les expériences de Cadéac et Malet (1) ; il en est de même des émanations cadavériques de ceux qui ont succombé. L'inoculation sous-cutanée ou le contact de matière virulente avec une blessure sont les modes les plus certains de contagion. Les injections de virus dans la trachée ne donnent pas fatalement la maladie ; il y a ici une tolérance très grande, subordonnée aux altérations de la muqueuse respiratoire. Cadéac et Malet (2) ont constaté deux fois sur treize la transmissibilité de la morve de la mère au fœtus, à travers le placenta. Babès (3) a observé que les Bacilles de la morve pouvaient même pénétrer dans l'organisme à travers la peau intacte. La possibilité de la contagion par ingestion est également démontrée. Le jetage est le véhicule ordinaire du contage. Desséché et exposé à l'air, le virus perd rapidement sa puissance. Du jetage morveux conservé dans l'eau a gardé sa virulence pendant dix-huit jours. La virulence est détruite par une ébullition de deux minutes dans l'eau ou par un séjour de cinq minutes dans l'eau à 80 degrés.

Les précautions les plus minutieuses sont nécessaires pour empêcher l'affection de s'étendre, lorsqu'elle s'est déclarée dans une écurie, ou de se communiquer aux personnes qui approchent les animaux malades. Les locaux et les objets qui ont pu être souillés par le sang ou le jetage doivent être désinfectés avec soin, à l'eau bouillante ou avec une solution de sublimé, qui détruit facilement la virulence morveuse à 1 pour 10000.

Il ne semble pas jusqu'ici que la viande d'animaux morveux ait été la cause d'accidents ; il est vrai que le seul animal de boucherie pouvant contracter la morve est le cheval. Toutefois, vu la possibilité de contagion que présente surtout le maniement de la viande crue ou l'absorption de viande peu cuite, il faut éloigner à tout prix ces viandes de la consommation. Elles présentent peu de caractères distinctifs ; ce sont les lésions des viscères et de la muqueuse nasale qui guideront ; le diagnostic bactériologique et l'inoculation expérimentale seront d'un très grand secours.

Recherche et diagnostic.

La recherche microscopique directe du Bacille dans les produits morveux est souvent très chanceuse, à cause de leur rareté fréquente et de leur coloration assez difficile.

La *mise en culture* donne de meilleurs résultats. Le milieu de choix est la pomme de terre. La culture du *Bacille de la morve* y apparaît très vite ; son aspect est très caractéristique (p. 567). Il n'est guère possible de la confondre avec les cultures d'autres espèces qui peuvent se rencontrer dans les mêmes produits. Le *Staphylocoque pyogène doré*, entre

(1) Cadéac et Malet, Rech. exp. sur la morve. — Toulouse, 1886 : Étude exp. de la transmission de la morve par contagion médicale ou par infection (*Revue de méd.*, 1887, n° 5, p. 337).

(2) Id., Sur la transmissibilité de la morve de la mère au fœtus (*C. R. de l'Acad. des sc.*, t. CII, 1887, p. 133).

(3) Babès, *Bull. de l'Acad. de méd.*, 20 mai 1890.

autres, qui est fréquent dans le jetage ou les ulcères morveux, donne des colonies beaucoup plus petites, plus bombées, d'un jaune doré, opaques. L'examen microscopique lèvera les doutes. Il en est de même pour l'*Ascobacterium luteum*.

L'*inoculation au cobaye* (p. 569) est un moyen très précieux, qui peut donner des résultats en quelques jours. Il faut cependant se souvenir que l'inoculation du jetage en particulier peut déterminer la mort rapide du cobaye par infection septique due à d'autres microbes présents dans le produit employé.

Les lésions testiculaires, si importantes, peuvent en outre être provoquées par d'autres microbes. Nocard (1) a isolé dans certaines *lymphangites ulcéreuses* du cheval une Bactérie en bâtonnets courts, assez épais, parfois légèrement effilés aux extrémités, qui, inoculée dans le péritoine de cobayes mâles, provoque une orchite semblable à l'orchite morveuse ; ce microbe *reste* nettement coloré par la méthode de Gram et donne sur pomme de terre une culture blanchâtre, sèche, pulvérulente. Kutscher (2) a rencontré dans le jetage de chevaux morveux un fin Bacille qui reste aussi coloré par la méthode de Gram et donne sur pomme de terre de petites colonies sèches, d'un blanc pur ; il croît facilement sur la gélatine qu'il liquéfie ; l'inoculation au cobaye mâle donne aussi des lésions testiculaires semblables aux précédentes. Il est donc important de ne pas se borner, pour établir un diagnostic de morve, à rechercher les phénomènes testiculaires produits chez le cobaye, mais à employer simultanément les autres méthodes, les réactions colorantes, les aspects des cultures et l'emploi de la malléine.

Galtier a proposé l'*inoculation au chien*, en scarifications. La suppuration, l'œdème et l'apparence ulcéreuse des sillons, permettent d'établir un diagnostic en quarante-huit heures. Toutefois, les résultats ne seraient pas constants.

On a aussi préconisé l'*inoculation à l'âne* qui prend facilement et très vite la morve aiguë typique.

L'*emploi de la malléine* (p. 569) donne presque toujours des résultats très précis. Il est nécessaire, toutefois, de se mettre dans des conditions déterminées. Les animaux doivent être laissés en repos quarante-huit heures avant l'opération ; pendant ce temps, on doit prendre plusieurs températures et éliminer les fébricitants. Ceux qui ne présentent qu'une réaction générale minime et une augmentation de température inférieure à 1°,5 devront être soumis à une nouvelle épreuve après un mois.

Le *séro-diagnostic* peut rendre des services, comme l'ont montré Bourges et Méry (3). L'agglutination des Bacilles des cultures fraîches est très nette à une dilution de 1 p. 1 000. Le sérum de chevaux sains ou atteints d'autres affections que la morve agglutine réellement, mais jamais au-dessus de 1 p. 300. En employant 1 de sérum pour 500 de culture, on peut espérer pouvoir établir si l'animal est morveux ou non. Toutefois, le pouvoir agglutinant ne se montrait bien développé dans les expériences sur les cobayes que neuf jours après l'inoculation intrapéritonéale.

(1) Nocard, Sur une lymphangite ulcéreuse simulant le farcin morveux chez le cheval (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 609).

(2) Kutscher, Zur Rotzdiagnose (*Zeitschr. für Hygiene*, XXI, 1895, p. 156).

(3) Bourges et Méry, Sur le séro-diagnostic de la morve (*Soc. de Biol.*, 5 févr. 1898).

BACILLUS DIPHTERIÆ, Loeffler.

(*Bacille de la diphtérie, Bacille diphtérique, Bacille de Klebs, Bacille de Loeffler.*)

Atlas de microbiologie, pl. VI et VII.

L'étude microscopique des fausses membranes diphtériques y a fait reconnaître la présence de Bactéries d'espèces diverses, qui n'ont évidemment pas la même importance dans le processus pathologique. A côté de l'espèce véritablement pathogène, cause de l'infection diphtérique si contagieuse et souvent si grave, s'en trouvent d'autres probablement accidentelles ou appartenant à ces Bactéries commensales, abondantes à la surface de certaines muqueuses, qui peuvent alors jouer un rôle secondaire, contribuer peut-être à la formation des fausses membranes et aider ainsi à la végétation du parasite. C'est en particulier le cas de ces Micrococques fréquents, dont Cohn avait fait l'espèce *Micrococcus diphtericus*, que Loeffler d'abord, nombre d'autres après lui, ont isolés des fausses membranes, qu'on peut même rencontrer seuls dans certaines fausses membranes, mais qu'il est nécessaire de bien distinguer du véritable *Bacille de la diphtérie.*

Klebs (1) le premier, en 1883, a signalé la présence, dans les fausses membranes diphtériques, de bâtonnets qu'il donne déjà comme spécifiques. Loeffler (2) est parvenu à isoler et à cultiver ce microbe qu'il rencontra fréquemment dans les fausses membranes du pharynx et de la trachée et dans le suc pulmonaire d'un cas de broncho-pneumonie diphtérique. Darier (3) est arrivé à des résultats analogues. Les recherches les plus complètes sur ce sujet sont sans contredit celles de Roux et Yersin (4), qui ont retrouvé le Bacille signalé par Klebs et Loeffler dans tous les cas de diphtérie vraie qu'ils ont examinés ; qui ont reproduit la diphtérie typique chez les animaux inoculés avec ces cultures, diphtérie avec fausses membranes, suivie de paralysies secondaires analogues à celles observées chez l'homme à la suite de la diphtérie; qui ont reconnu dans ces cultures la présence d'une substance toxique soluble, tuant rapidement les animaux ou leur donnant des paralysies, suivant la dose injectée, sans aucune intervention de microbes vivants. La communication de Roux, au Congrès de Budapest en 1894, fit avancer d'un grand pas la question du traitement et de la prophylaxie de l'affection.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Dans les cas de diphtérie à marche rapide, après coloration au bleu de méthylène des coupes d'une fausse membrane diphtérique et de la muqueuse à laquelle elle est adhérente, on s'aperçoit que les parties superficielles de la fausse membrane sont formées par une couche de petits Bacilles presque à l'état de pureté,

(1) Klebs, Congrès de Wiesbaden, 1883 (*Arch. für exper. Path.*, I et IX).

(2) Loeffler, Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphterie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalbe (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, 1884, p. 421).

(3) Darier, Broncho-pneumonie dans la diphtérie. Thèse de Paris, 1885.

(4) Roux et Yersin, Contribution à l'étude de la diphtérie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, II, 1888, p. 628 III, 1889, p. 273, et IV, 1890, p. 384).

ou mélangés à d'autres bâtonnets, des coccus isolés ou des chaînettes Ce sont les premiers de ces microbes qui doivent être regardés comme spécifiques.

Les caractères d'aspect et de forme du *Bacille de la diphtérie* sont



Fig. 233. — *Bacille de la diphtérie* dans les cultures : forme moyenne 1000/1.

sujets à des variations assez grandes suivant leur origine; il est bon d'en être prévenu. Ce sont, en général, des bâtonnets droits ou courbés, *toujours immobiles*. Les extrémités sont arrondies, souvent plus ou



Fig. 234. — *Bacille de la diphtérie* dans les cultures : forme petite 1000/1.

moins renflées, ce qui donne à l'élément la forme d'une massue, l'aspect piriforme ou l'aspect en *os de grenouille*, en haltères (fig. 235).

Fréquemment, ils sont presque aussi longs que le *Bacille de la tuberculose* et d'une épaisseur double, mesurant 2,5 μ à 3 μ de long sur 0,7 μ de large; ils peuvent n'atteindre que 1 μ de longueur ou au contraire dépasser même 5 μ (fig. 233 et 234).

Babès (1), puis Fraenkel (2) et surtout Bernheim et Folger (3) ont décrit



Fig. 235. — Formes anormales du *Bacille de la diphtérie*. Cultures sur sérum et dans l'œuf. 1200/1.

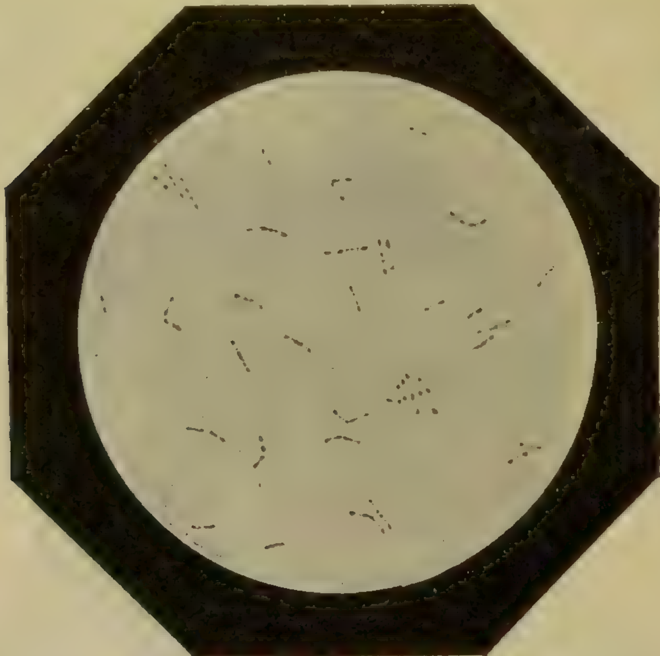


Fig. 236. — *Bacilles de la diphtérie*. Cultures sur sérum, de quatorze heures. Coloration de Crouch. 1200/1.

des formes ramifiées dans les cultures. Ces formes s'observent souvent

(1) Babès, Beobachtungen über die metachromatischen Körperschen, Sporenbildung, Verzweigung, Kolben und Kapselbildung pathogener Bakterien (*Zeitschr. für Hygiene*, XX, 1895, p. 412).

(2) Fraenkel, Eine morphologische Eigenthümlichkeit des Diphteriebacillus (*Hygienische Rundschau*, 1895, n° 8, p. 349).

(3) Bernheim et Folger, Ueber verzweigte Diphteriebacillen (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 1).

dans les cultures sur sérum de Loeffler, et dans l'œuf cru, plus rarement sur gélose glycérinée et dans le bouillon (fig. 236). Par ces formes en massues, cette production de ramifications, le *Bacille de la diphtérie* se rapproche du *Bacille de la tuberculose* et du *Bacille de la morve* où de pareils faits ont été signalés; c'est aussi ce qui conduit certains observateurs à le ranger, comme les précédents, parmi les *Streptothrix* ou *Cladothrix* (1).

Les raisons de ces variations de forme ne sont pas encore bien connues; la constitution du milieu peut jouer un rôle (2).

L'arrangement des bâtonnets peut aussi donner de bonnes indications. Souvent deux éléments sont unis à angle plus ou moins aigu, formant une sorte de V plus ou moins ouvert, d'L ou d'accent circonflexe; ou bien réunis bout à bout par deux, pas en plus grand nombre; les bâtonnets peuvent aussi se placer côte à côte, presque parallèlement, donnant l'aspect dit *en palissade*, ou bien se disposer très irrégulièrement les uns à côté des autres, en petits amas peu serrés, aspect dit *en broussailles*. Ces différents arrangements proviennent très probablement, en partie au moins, des particularités de développement. Les éléments jeunes paraissent pouvoir être produits par de petites masses protoplasmiques formées en un point du bâtonnet mère, souvent à l'une des extrémités. C'est une sorte de germination qui se fait directement, sur place. L'élément nouveau pousse obliquement ou perpendiculairement à l'élément mère et peut rester en cette situation formant un V plus ou moins ouvert, ou un L, ou se sépare et s'accole souvent latéralement à celui qui lui a donné naissance.

On peut, avec quelque raison, considérer ces amas plus ou moins sphériques de protoplasma condensé comme un stade simple de formation de spore. Ce sont des masses protoplasmiques réfringentes, formées de matériaux denses, de réserve, pouvant, par une véritable germination, donner des éléments nouveaux. Ce sont là certainement les caractères fondamentaux de la spore. Il ne manque que la constitution de la membrane propre, que l'on peut concevoir biologiquement comme un caractère secondaire et qui paraît être la raison principale, sinon l'unique, de la résistance présentée par les spores à l'égard des agents de destruction, par conséquent simple organe de protection.

Le contenu de l'élément présente souvent des vacuoles, surtout visibles sur les bâtonnets colorés, par l'absence de coloration à différents endroits.

On observe fréquemment aussi, dans les fausses membranes et dans les cultures, des éléments fortement renflés, sphériques, ovoïdes ou piriformes, que l'on doit considérer comme des formes de dégénérescence.

D'après Babès (3), dans certaines conditions, tout particulièrement en cultivant l'espèce dans de la gélatine à 22°, on observerait, mais

(1) Meyerhoff, Zur Morphologie des Diphteriebacillus (*Arch. für Hygiene*, XXXIII, 1898, p. 1).

(2) Kurth, Ueber die Diagnose des Diphteriebacillus unter Berücksichtigung abweichender Culturformen desselben (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVIII, 1898, p. 409).

(3) Babès, Berbachtungen über die metachromatischen Körperchen, Sporenbildung, Verzweigung, Kolben und Kapselbildung pathogener Bakterien (*Zeitschr. für Hygiene*, XX, 1895, p. 412).

rarement, la formation de spores allongées ou ovoïdes, de 1 μ de longueur environ, tantôt à une extrémité, tantôt au milieu ; ces spores se coloreraient par la méthode de double coloration indiquée page 312 et résisteraient à une température de 100°. Cette observation n'a pas été confirmée.

Coloration. — Le *Bacille de la diphtérie* se colore assez mal à l'aide des solutions aqueuses simples, bien mieux à l'aide du bleu de Loeffler, de la solution de Ziehl, du violet de Nicolle et surtout du bleu de Roux (p. 297).

Il ne *se décolore pas* par la méthode de Gram, mais ne garde alors souvent qu'imparfaitement le colorant, et encore ne doit-on pas faire agir l'alcool trop longtemps ; la préparation doit garder une teinte gris bleu.

La coloration ne se fait souvent que par places dans le corps du bâtonnet, laissant ainsi un ou plusieurs espaces clairs, représentant les vacuoles dont il a été parlé plus haut ; les formes à vacuoles se trouvent surtout dans les vieilles cultures, la coloration des éléments jeunes se fait mieux et plus uniformément.

En usant de certains colorants, le bleu de méthylène en particulier, on constate qu'il existe, dans le corps protoplasmique, des granulations ou des grains plus gros, sphériques ou ovoïdes, se comportant autrement que le reste du contenu. Ces corps apparaissent au microscope colorés d'une nuance bien différente, d'un rouge-rubis brillant avec certaines positions de l'objectif. Babès (1) les a signalés en 1875 sous le nom de *corpuscules métachromatiques* (Voy. p. 20). Leur présence fréquente aux extrémités des bâtonnets leur fait donner aussi le nom de *corpuscules polaires*.

Leur présence est assez régulière chez le *Bacille de la diphtérie* pour qu'on ait cherché à en faire un caractère différentiel. On a imaginé, pour mieux les mettre en vue, des méthodes de colorations spéciales dont les préférables sont celles de Crouch (2) et de Neisser (3).

Méthode de Crouch. — La solution colorante employée est la suivante :

Solution de Crouch.

Solution de vert de méthyle à 1 p. 100....................	5 parties.
Solution de violet de dahlia à 1 p. 100....................	1 partie.
Eau de violet de dahlia à 1 p. 100........................	4 parties.

Laisser la coloration se faire pendant une seconde pour les Bacilles des cultures, pendant deux secondes pour les Bacilles des fausses membranes. On peut faire une double coloration avec la vésuvine ou le bleu de méthylène pendant deux à trois secondes. Laver à l'eau ordinaire.

Les bâtonnets ainsi colorés (fig. 236) montrent à chaque extrémité un petit grain rouge-rubis, surtout bien net à la lumière de la lampe ; il est des bâtonnets qui en montrent jusqu'à quatre de grosseur semblable ou différente ; beaucoup de ces grains du milieu des bâtonnets paraissent nettement divisés à un très fort grossissement.

(1) Cornil et Babès, Les Bactéries, 3e édition, t. II, p. 58.

(2) Crouch, The detection of the diphteria bacillus by its peculiar reaction toward certain stains (*New York Med. Journ.*, LXII, 1895, n° 14).

(3) Neisser, Zur Differenzialdiagnose der Diphteriebacillus (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIV, 1897, p. 443).

Ces grains se rencontrent dans les bâtonnets des cultures faites à toutes températures jusqu'à 37 degrés.

Méthode de Neisser. — Neisser emploie les deux solutions suivantes :

Solution I (Neisser).

Un gramme de bleu de méthylène (Grubler) est dissous dans 20 centimètres cubes d'alcool à 96°; on y ajoute 950 centimètres cubes d'eau distillée et 50 centimètres cubes d'acide acétique glacial.

Solution II (Neisser).

Deux grammes de vésuvine sont dissous dans un litre d'eau distillée bouillante.

Il est nécessaire de filtrer, surtout pour la solution II.

Les lamelles préparées sont colorées à la solution I pendant une à trois secondes. Il faut laver à l'eau, uniquement à l'eau distillée à cause de l'influence mauvaise des sels de chaux et de magnésie (Kurth) (1); puis colorer de trois à cinq secondes dans la solution II; laver encore à l'eau distillée.

Les grains, disposés comme précédemment, apparaissent plutôt d'un bleu noir.

Ces deux procédés paraissent avoir une grande valeur pour le diagnostic différentiel, sans toutefois qu'on puisse la regarder comme absolue. Il en sera parlé plus loin à propos du diagnostic.

Cultures. — Cette Bactérie ne se développe bien qu'à une température supérieure à 20°, très peu à 18° et cesse de croître à 42°. Son optimum de température semble être vers 35°. Elle végète surtout bien en présence de l'oxygène, mais peut aussi montrer un développement restreint en anaérobie.

Les milieux habituels conviennent d'ordinaire; les milieux glycérinés, sérum et gélose surtout, donnent cependant une végétation plus abondante.

Cultures dans le bouillon. — Le milieu se trouble très rapidement de douze à vingt-quatre heures à 37°, et d'une façon uniforme ; de petits grumeaux se déposent contre les parois du vase ; il se forme à la surface un léger voile, très fragile, surtout développé vers 30°-33° à un repos absolu, et au fond une couche blanchâtre, de plus en plus épaisse, un peu visqueuse, adhérente au verre. Le liquide s'éclaircit un peu à la longue, mais jamais d'une façon complète. Le bouillon, légèrement alcalin au début, devient d'ordinaire acide au bout de quelques jours ; l'acidité persiste assez longtemps, puis elle est remplacée par une réaction alcaline si l'air a libre accès dans la culture. Les bouillons glycérinés ou sucrés deviennent plus rapidement acides que les bouillons ordinaires ; cette trop grande acidité nuit au microbe, qui y perd plus vite sa vitalité.

Dans le vide, le trouble du bouillon est moins prononcé, la culture est moins abondante qu'à l'air ; le liquide conserve indéfiniment la réaction acide.

Cultures sur gélatine. — Les cultures sur gélatine restent toujours très minimes à cause de la température basse, 23°-24° au maximum

(1) Kurth, Ueber die Diagnose der Diphteriebacillus unter Berücksichtigung abweichender Culturformen desselben (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVIII, 1898, p. 409).

avec 15 à 20 p. 200 de gélatine, qu'il est possible d'employer pour que la gelée ne fonde pas. La gélatine *n'est pas liquéfiée*.

Sur *plaques*, le microbe donne de petites colonies blanchâtres, punctiformes, qui ne grandissent guère.

En *piqûre*, le développement est très peu abondant de 20° à 22° ; on n'observe que de très petites colonies, clairsemées, dans le canal de la piqûre ; à 24°, le développement est un peu plus abondant et donne une mince culture en clou. Ces cultures sur gélatine renferment très souvent des formes anormales ; c'est dans de telles cultures maintenues longtemps à 18°-22° que Babès aurait observé la production de spores.

Cultures sur gélose. — Le développement s'y fait bien. Au bout de trente à quarante-huit heures à 37°, on distingue déjà les colonies comme de petites taches blanches, plus épaisses au centre ; elles peuvent confluer en une traînée d'un blanc grisâtre après quelques jours.

La *gélose glycérinée* semble mieux convenir (1). L'addition de glycérine paraît du reste favorable pour tous les milieux ; d'après Gossage (2), elle favoriserait la production des grains métachromatiques.

Cultures sur sérum. — C'est certainement le milieu qui convient le mieux à cette espèce ; elle y pousse très rapidement, aussi est-il à recommander de s'en servir pour l'isoler des autres qui l'accompagnent souvent et y croissent moins vite qu'elle.

Les sérosités d'ascite et de pleurésie donnent de moins bons résultats que le sérum.

Loeffler recommande le *sérum peptonisé* obtenu en mélangeant trois parties de sérum de sang de veau ou de mouton et une partie de macération de viande de veau (*Fleisch-infus-pepton*, p. 177), peptonisée et sucrée à 1 p. 100, salée à 0,5 p. 100 et coagulant à 70°. Le développement du Bacille de la diphtérie y est un peu plus abondant que sur sérum ordinaire ; mais les autres espèces qui peuvent se trouver avec lui dans les fausses membranes de la diphtérie, par exemple, est de beaucoup exalté ; il devient alors plus difficile de faire la séparation.

Sur simple sérum coagulé, recommandé par Roux à cet effet, les colonies du *Bacille de la diphtérie* se développent moins vite et moins abondamment que sur sérum peptonisé ; mais, par contre, les autres espèces végètent beaucoup moins vite, leurs colonies apparaissent bien moins tôt et grandissent moins vite ; il est alors beaucoup plus facile de faire la distinction et l'isolement.

Roux et Yersin recommandent le procédé suivant pour isoler le *Bacille de la diphtérie* des fausses membranes qui en renferment : Un fil de platine est frotté légèrement sur la fausse membrane ou les produits suspects. A l'aide de ce fil, on ensemence, en une ou deux stries, successivement plusieurs tubes de sérum simple coagulé, *sans recharger le fil*, et on porte à l'étuve à 37°. Au bout de quinze à dix-huit heures, les colonies du *Bacille de la diphtérie* sont déjà bien développées. Ce sont de petites taches arrondies, de la grosseur d'une tête d'épingle, d'un

(1) Michel, Das Wachstum der Diphteriebacillen auf verschiederen Sena und Glycerinagar (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 259).

(2) Gossage, The influence of Glycerine in culture media on the diphteria bacillus (*The Lancet*, 15 août 1896, et 1898, n° 3807).

blanc grisâtre, à centre plus opaque que la périphérie. A un faible grossissement, les bords sont légèrement onduleux, plus transparents ; toute la colonie est finement granuleuse. Ces colonies grandissent avec l'âge et atteignent, après quatre à huit jours, un diamètre de 3 à 5 millimètres en conservant le même aspect.

Cobbett (1) emploie le *sérum alcalinisé* de bœuf ou mieux de cheval. Le premier est additionné de 2 grammes de glucose et de 1,75 centimètre cube de solution de soude à 10 p. 100 pour 100 centimètres cubes de sérum et stérilisé à l'autoclave à haute température ; le second de 2 grammes de glucose et seulement de 1,25 à 1,30 centimètre cube de solution de soude et stérilisé deux fois à un jour d'intervalle à 90°. Ces milieux sont très transparents.

Le mélange de gélose et de sérum donne un excellent milieu de culture ; Joos (2) le recommande tout spécialement, le *Bacille de Loeffler* y poussant rapidement et d'autres espèces, souvent mélangées avec lui, beaucoup moins vite.

Nous reviendrons plus loin sur tous ces caractères à propos du diagnostic de la diphtérie.

Cultures sur pomme de terre. — Il ne se forme pas, sur la pomme de terre à réaction alcaline, de culture bien apparente ; mais si l'on racle au bout de quelques jours la surface ensemencée, on trouve de nombreux Bacilles dans le produit recueilli. Il ne se forme rien sur pomme de terre acide.

Cultures dans le lait. — Le lait est un bon milieu de culture pour le *Bacille diphtérique* ; il n'y produit pas de coagulation. Le lait de vache cru est particulièrement favorable, comme le montrent les recherches de Schottelius (3) ; ce liquide donne la réaction amphotère.

Cultures sur blanc d'œuf cuit. — Le microbe donne, en vingt-quatre heures, à 35°-37°, de petites colonies rondes, mates, peu transparentes, d'une blancheur moins éclatante que celle du substratum. En vieillissant, elles prennent une teinte jaune un peu rougeâtre. C'est une méthode qui peut servir pour le diagnostic, lorsqu'on n'a pas de sérum à sa disposition (4).

Culture en milieux chimiquement définis. — Dans le liquide d'Ouchinski (5) (p. 173), le développement est peu sensible dans les premiers jours, puis, une fois commencé, se poursuivrait presque aussi bien que dans le bouillon ordinaire. L'addition d'un peu d'urée ou d'acide urique, de sucre de cannes serait favorable. Le Bacille se développe à la surface et dans la partie supérieure du liquide ; puis les éléments tombent et se réduisent en un dépôt floconneux. L'activité de ces cultures est moindre que chez celles en bouillon.

(1) Cobbett, Alcalinisistes Rinder und Pferdeserum als Hilfsmittel bei der Diphteriediagnose (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 395).

(2) Joos, Untersuchungen über Diphterie diagnose (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 296 et 351).

(3) Schottelius, Ueber das Wachstum der Diphteriebacillen in Milch (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 897).

(4) Sacharoff, Simplification du diagnostic bactériologique de la diphtérie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 451).

(5) Ouchinsky, Recherches sur la nature des poisons de la diphtérie et du choléra (*Arch. de méd. expér.*, V, 1893, p. 293).

D'après Hugounencq et Doyon (1), cependant, les cultures sur liquide d'Ouchinski ne donneraient pas de bons résultats, même avec addition de peptones.

Le liquide suivant paraît beaucoup mieux convenir (Jirou) :

Eau	1000 grammes.
Glucose	20 —
Asparagine	5 —
Urée	3 —
Lactate d'ammoniaque	2gr,50
Sulfate de soude	2 grammes.
Chlorure de sodium	2 —
Phosphate de potasse	2 —
Chlorure de calcium	0gr,1
Sulfate de magnésie	0gr,1

Le milieu, légèrement alcalin, est stérilisé par un chauffage de deux heures à 100° ; il prend alors une légère teinte jaunâtre.

Le *Bacille de la diphtérie* y donne, en vingt-quatre à quarante-huit heures, un trouble net, diffus. Par ensemencements successifs, le trouble apparaît plus tôt. Après, il se forme un voile blanc très léger à la surface et de petits grumeaux dans le liquide. En n'ensemençant que la surface, le voile léger se montre d'abord, après vingt-quatre heures ; le trouble ne se produit qu'ultérieurement.

Le microbe conserve bien sa vitalité sur ce milieu ; il n'y meurt qu'après cinquante à soixante jours.

Il y prend des formes assez spéciales. Après vingt-quatre heures, on trouve beaucoup de petites plaques de formes rondes ; on dirait des coccus. Plus tard, les formes normales deviennent plus abondantes ; les pseudo-coccus s'allongent et donnent de courts bâtonnets ; ils ne disparaissent cependant jamais entièrement, même dans des cultures de un à deux mois. Portées de ce milieu sur les milieux albuminoïdes habituels, les colonies se montrent presque exclusivement formées de Bacilles normaux.

Propriétés biologiques.

Vitalité. — Le *Bacille de la diphtérie* jouit d'une grande vitalité. Des cultures sur sérum peuvent donner un développement dans un nouveau milieu, après six mois et même un an. Roux et Yersin en ont obtenu des cultures de fausses membranes sèches conservées pendant dix-huit mois à l'obscurité. L'action des diverses conditions de milieu sur les propriétés du microbe sera étudiée plus loin.

Virulence. — La virulence du microbe obtenu des produits diphtériques est loin d'être toujours identique ; elle varie, au contraire, dans de très larges limites. On l'évalue par l'inoculation de cultures jeunes aux animaux d'expériences, principalement au cobaye. Un Bacille très virulent tue le cobaye de 300 à 400 grammes en vingt-quatre à trente-six heures, à la dose de un demi à 1 centimètre cube, en injection sous-cutanée, quelquefois même en moins de temps ; un moyennement virulent

(1) Hugounencq et Doyon, Les milieux de culture définis (*Soc. de Biol.*, 18 avril 1896).

le tue en deux à cinq jours; un peu virulent le tue en huit ou dix jours, parfois plus, ou ne détermine même plus qu'une simple lésion locale, un œdème suivi d'escarre. Il est même des Bacilles qui n'occasionnent qu'un très minime œdème au point d'inoculation, ou même rien du tout; leur virulence est nulle.

Pour apprécier ce degré de virulence, il est nécessaire de n'inoculer que des cultures jeunes ou rajeunies. Une vieille culture peu virulente gagne en activité lorsqu'on la rajeunit.

La virulence est donc, ici aussi, une propriété contingente du microbe, qui diminue ou même disparaît lorsque certaines conditions de vie interviennent.

L'âge de la culture est un facteur important pour la virulence. Au fur et à mesure qu'une culture vieillit, surtout en présence d'air en abondance, on voit sôn activité diminuer ; dans un courant d'air, elle peut même complètement disparaître au bout d'un certain temps. Cette atténuation ne s'obtient pas régulièrement, mais se produit tantôt vite, tantôt lentement; on peut même ne pas observer de décroissance régulière et graduelle. Les milieux de culture influent sur cette atténuation; un Bacille cultivé sur gélose perd plus facilement et plus vite son activité qu'en culture sur sérum ou dans le bouillon. Enfin, bien des conditions qui seront étudiées plus loin, entre autres la dessiccation à l'air, la lumière, agissent aussi comme agents d'atténuation.

Souvent, cependant, cette atténuation d'une culture peut n'être qu'apparente. Une vieille culture, qui, de très active au début, se montre peu dangereuse pour le cobaye, peut ne pas présenter l'atténuation véritable, acquise, et, par conséquent, transmissible par hérédité; il suffit de la rajeunir pour voir reparaître la virulence première. De là, la nécessité de toujours réensemencer une culture pour pouvoir se prononcer exactement sur son degré d'activité.

En l'absence d'air, ou presque, la virulence se conserve plus longtemps sans se modifier sensiblement. Il est possible de conserver longtemps l'activité d'une culture en la gardant en ampoules scellées et la renouvelant seulement par période de quelques mois.

Martin (1) attribue, au point de vue de la virulence, une grande importance aux différences de forme des éléments bacillaires, différences qui ont été précédemment signalées (p. 575). Pour lui, les Bacilles courts, disposés souvent parallèlement les uns aux autres, seraient très bénins; les Bacilles moyens, peu toxiques; les Bacilles longs, intriqués, les plus toxiques. Il faut reconnaître que la pratique est loin de démontrer l'exactitude et la constance de ces données, des Bacilles longs, enchevêtrés, se montrant parfois peu virulents, même inactifs, et des formes courtes, où les bâtonnets se disposent souvent parallèlement, pouvant se montrer très actifs. Du reste, un même Bacille, se développant sur sérum ordinaire, peut revêtir la forme courte, et, sur sérum de Loeffler, la forme longue.

De nombreuses expériences démontrent qu'un Bacille qui a totalement perdu sa virulence, dont l'inoculation au cobaye, même à

(1) Martin, Examen clinique et bactériologique de deux cents enfants entrés au pavillon de la diphtérie à l'hôpital des Enfants-Malades (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 335).

fortes doses, ne détermine plus rien, ou simplement un minime œdème au point d'inoculation, ne peut plus guère récupérer sa virulence. Roux et Yersin sont toutefois parvenus à un résultat positif en associant à une culture très atténuée, ne déterminant chez le cobaye qu'un petit œdème de deux ou trois jours de durée, une culture de *Streptocoque de l'érysipèle* de très grande virulence. De telles associations peuvent se rencontrer accidentellement dans la nature, dans le cas d'angine, par exemple, ce qui explique bien des cas d'infection.

Il n'en est plus de même avec un Bacille dont la virulence est simplement diminuée, s'est atténuée sous une influence affaiblissante quelconque.

On arrive, d'après Bardach (1), à lui faire récupérer sa virulence par une série de passages continus sur des animaux de moins en moins sensibles. Le *Bacille diphtérique* ne se développant qu'au point d'inoculation, il est nécessaire de prendre la semence dans la lésion locale, l'œdème qui se produit à cet endroit. A chaque passage, on fait avec cette semence une nouvelle culture qui sert à l'inoculation suivante. Bardach dit être ainsi arrivé à de très bons résultats en se servant du chien ; d'autres ont observé les mêmes phénomènes avec le cobaye ou avec des petits oiseaux, moineau ou pinson par exemple, plus sensibles encore que ce dernier animal. Le meilleur moment pour prendre la semence dans la lésion locale est de la sixième à la huitième heure.

Le même procédé peut servir à exalter la virulence d'une culture déjà très active; le tableau suivant, emprunté à Funck (2), peut donner une bonne idée d'une telle opération ; il faut cependant faire remarquer qu'on est loin d'obtenir toujours et régulièrement les mêmes bons résultats.

PASSAGE.	COBAYE.	POIDS EN GRAMMES.	DOSE INJECTÉE.			SUITES.
1er	I	300	Injection de	0gr,1	de culture	Mort en 24 heures.
2e	II	274	—	0gr,05	—	Mort en 24 heures.
3e	III	309	—	0gr,01	—	Mort en 36 heures (ne pèse plus que 259 gr.).
4e	IV	345	—	0gr,005	—	Mort en 2 jours (ne pèse plus que 293 gr.).
5e	V	276	—	0gr,001	—	Mort en 9 jours (ne pèse plus que 241 gr.).

Trumpp (3) obtient une récupération très nette de virulence, en injectant au cobaye 0,35 centimètres cubes de toxine diphtérique en même temps que 5 centimètres cubes de culture de vingt heures du microbe très atténué et même totalement dépourvu de virulence. La mort survient. En mettant en culture de la sérosité prise au point d'inoculation du microbe, il récolte un microbe qui tue déjà le cobaye sans intervention de toxine et qui se renforce par passages successifs.

L. Martin (4) recommande surtout l'emploi de la méthode des sacs

(1) Bardach, Études sur la diphtérie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 40).

(2) Funck, Manuel de sérothérapie antidiphtérique, 1895, p. 18.

(3) Trumpp, Diphterie oder Pseudodiphteriebacillen im Empyemeiter (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 721).

(4) L. Martin, Production de la toxine diphtérique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 26).

de collodion, introduits dans la cavité péritonéale de lapins (p. 280).

Avec des Bacilles déjà bien virulents, il devient possible, par les inoculations en série ou par les cultures en sacs de collodion introduits dans la cavité péritonéale, d'exalter d'une façon notable la virulence première et d'obtenir ainsi des microbes très actifs.

L'atténuation complète de la virulence conduit à l'obtention d'un Bacille qui ne se distingue du *Bacille diphtérique* actif que par le manque de toute activité ; les autres caractères, caractères de morphologie et de cultures surtout, sont identiques. Ce n'est plus qu'un véritable microbe saprophyte ; il n'est pas possible de faire reparaître sa virulence par les procédés connus jusqu'ici. Nous reviendrons plus loin sur cette question, à propos du *Bacille pseudo-diphtérique*.

Action des conditions de milieu. — Le *Bacille de la diphtérie* peut être considéré comme résistant assez bien aux diverses conditions qui influent d'ordinaire sur la vitalité des microbes.

Dessiccation. — Roux et Yersin avaient déjà signalé que des fausses membranes desséchées, placées à l'obscurité, pouvaient encore donner des cultures après plusieurs mois. Reyes (1), opérant sur des cultures, dit avoir vu les Bacilles soumis à la dessiccation ordinaire en présence de l'air résister jusqu'à cent jours dans la poussière ; ils sont au contraire tués en quelques heures, quarante-huit heures au plus, par la dessiccation complète en présence d'acide sulfurique.

Lumière. — Ledoux-Lebard (2) a constaté que la lumière diffuse n'agit pas sur la vitalité, tandis que l'insolation directe stérilise tout à fait les cultures en quelques jours. Les rayons les moins réfrangibles du spectre n'ont presque pas d'action bactéricide. D'après Gehrke (3), l'insolation directe tue en deux à six heures les Bacilles des cultures ordinaires ; les vieilles cultures en bouillon ne meurent qu'après un à deux jours.

Chaleur. — Les cultures sont rapidement tuées par une température de 58° en milieu humide ; desséchées auparavant à une température de 40° environ, elles pourraient résister à une température d'environ 100° pendant au moins trois quarts d'heure.

Action des antiseptiques. — D'une façon générale, le *Bacille de Loeffler* est très sensible à l'action des antiseptiques. Chantemesse et Widal (4), en expérimentant sur des fils de soie immergés dans une culture virulente, desséchés à l'étuve, puis plongés pendant une, deux, trois minutes dans le liquide à essayer, ont observé des résultats intéressants. Ils ont vu que l'eau de chaux, le tannin en solution aqueuse à 2 p. 100, l'acide phénique à 1 p. 100. l'acide borique à 4 p. 100, le sulfate de cuivre et le sulfate de zinc à 0,5 p. 100, l'eau naphtolée, l'eau salolée, l'acide salicylique en solution alcoolique à 5 p. 100, le perchlorure de fer

(1) Reyes, Sulla vitalita del bacille della differite fuori dell'organismo (*Ann. d'Igiene sper.*, V, 1895, p. 501).

(2) Ledoux-Lebard, Action de la lumière sur le Bacille diphtérique (*Arch. de méd. expér.*, 1894).

(3) Gehrke, Ueber das Verhalten der Diphteriebacillen in Wassern und auf Nährsubstraten unter dem Einflusse des direkten Sonnenlichter. Thèse de Greifswald, 1896.

(4) Chantemesse et Widal, Note sur le traitement antiseptique de la diphtérie (*Revue d'hygiène*, XI, 1889, p. 609).

en solution aqueuse à 1 p. 100, le biiodure de mercure à 0,5 p. 100, seul ou additionné d'acide tartrique ou d'acide citrique, ne montraient aucun résultat utile après trois minutes. L'alcool à 95° ne détruit pas le microbe. Le mélange suivant s'est montré particulièrement actif et stérilise presque immédiatement : 25 grammes de glycérine sont ajoutés à 5 grammes d'acide phénique pur et 20 grammes de camphre ; le liquide est agité et mis pendant dix minutes dans un bain-marie d'eau bouillante ; par le repos, il se divise en deux couches qui se mélangent par agitation ; il n'est que faiblement caustique.

D'Espine et Marignac (1) disent que le sublimé à 1 p. 1000, l'acide salicylique à 1 p. 2000, le jus de citron pur, peuvent entraver les cultures. Toutefois, il faut remarquer que le sublimé n'est pas actif pour les fausses membranes.

Barbier (2) regarde comme stérilisant sûr la solution de phénol sulfo-riciné à 20 p. 100.

Loeffler (3) signale comme très bactéricide pour les cultures et donnant de bons résultats pour le traitement local de la diphtérie, comme adjuvant du traitement sérothérapique, la mixture suivante :

Menthol	10	grammes.
A dissoudre dans :		
Toluol	36	centimètres cubes.
Alcool absolu	60	—
Perchlorure de fer liquide	4	—

Conserver dans des flacons jaunes bouchés à l'émeri. L'application se fait au moins toutes les deux heures, au moyen d'un tampon d'ouate imbibé du remède, après avoir un peu nettoyé la gorge.

Produits formés dans les milieux. — On ne connaît que bien peu de choses sur les diverses modifications que le *Bacille de la diphtérie* fait subir aux différents milieux dans lesquels il se développe.

Acidité. — Il y a d'abord dans les bouillons production d'acide. L'acidité peut persister si l'air ne se renouvelle pas ou si le milieu renferme certaines substances, de la glycérine en particulier ; elle est remplacée par une réaction alcaline lorsque l'air se renouvelle ; cette réaction est due à la production d'ammoniaque qui se combine plus ou moins à des composés constituants du milieu, forme en particulier du phosphate ammoniaco-magnésien qui peut même se disposer en cristaux.

Indol. — La présence d'indol dans les bouillons de culture a été signalée par Palmirski et Orlowski (4) ; elle a été, au contraire, niée par d'autres observateurs. Elle peut ne se manifester que très tard, un ou deux mois. On obtient même parfois la réaction avec simple addition d'acide sulfurique, comme dans la réaction du rouge du choléra, ce qui indique la présence dans le milieu d'une petite quantité de nitrite alcalin formé par le microbe.

Toxine. — La particularité de beaucoup la plus importante est la

(1) D'Espine et Marignac, *Rev. méd. de la Suisse romande*, 1890.

(2) Barbier, Traitement de la diphtérie (*France méd.*, janvier 1892).

(3) Loeffler, Die locale Behandlung der Rachendiphterie (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1894, n° 42).

(4) Palmirski et Orlowski, Ueber die Indolreaktion in Diphteriebouillonkulturen (*Centralbl. für Bakt.*, XVII, 1895, p. 358).

production, dans les milieux où le microbe se développe, d'une substance toxique spéciale, la *toxine diphtérique*, à laquelle sont dus les effets qu'il détermine dans les organismes vivants. Par extension, on applique le nom de *toxine diphtérique* aux liquides où a vécu le *Bacille de la diphtérie*, privés par filtration ou autre procédé de tout élément vivant.

Loeffler avait soupçonné l'existence de ce *poison diphtérique*, en remarquant que chez l'homme atteint de diphtérie ou chez l'animal inoculé expérimentalement, le Bacille ne se retrouvait que dans la lésion locale, fausse membrane ou œdème du point d'inoculation, et pas ailleurs, pas dans le sang ou les organes en particulier, comme dans d'autres infections *totius substantiæ*. Il avait ainsi été conduit à admettre que l'action nocive pourrait bien être due à une substance toxique sécrétée par le Bacille, pouvant même manifester ses effets après la disparition de celui-ci.

Roux et Yersin ont démontré l'existence de ce poison dans leurs belles recherches qui leur ont permis d'affirmer que « la diphtérie est une intoxication causée par un poison très actif formé par le microbe dans le lieu restreint où il se développe ». Il est, du reste, facile, en suivant leurs indications, de mettre en évidence cette substance toxique élaborée dans les cultures, tout particulièrement en s'adressant aux cultures dans le bouillon peptonisé.

Toutefois, les recherches d'Ouchinski (1) démontrent que cette toxine se produit également dans les milieux privés d'albumine, qu'elle est par conséquent élaborée dans le corps même des Bactéries et diffuse de là dans le milieu et qu'elle n'est conséquemment pas le résultat de la décomposition du milieu lui-même.

En filtrant sur une bougie de porcelaine une culture dans le bouillon restée sept jours à l'étuve, on obtient un liquide très limpide, légèrement acide, qui ne contient plus de microbes, puisqu'il laisse stériles tous les milieux de culture auxquels on l'ajoute. Ce liquide, inoculé à assez fortes doses, une trentaine de centimètres cubes, dans la cavité péritonéale d'un cobaye ou dans les veines auriculaires d'un lapin, détermine, après quelques jours, des troubles importants, souvent suivis de mort. Chez le cobaye, un des symptômes les plus frappants est une forte dyspnée ; chez le lapin, ce sont des paralysies qui débutent par le train postérieur et s'étendent ensuite à tout le corps ; souvent ces derniers animaux présentent une diarrhée profuse très commune dans la diphtérie infectieuse de l'homme.

Les cultures plus âgées possèdent une toxicité plus grande. La quantité de culture filtrée nécessaire pour déterminer la mort est beaucoup moins forte. La mort arrive plus rapidement. Les lésions sont identiques à celles que l'on observe chez les animaux qui ont succombé à l'inoculation du *Bacille de la diphtérie*. Elles seront étudiées plus loin. On ne retrouve, naturellement, jamais de *Bacilles de la diphtérie* dans les organes des animaux morts à la suite d'inoculation de cultures bien filtrées.

Enfin, en usant de méthodes spéciales de préparation et en prenant comme semence un Bacille très virulent naturellement ou à virulence exaltée, il est possible d'obtenir un liquide d'une activité beaucoup plus grande. Comme ce liquide toxique, cette *toxine diphtérique*, comme on

(1) Ouchinsky, Recherches sur la nature des poisons de la diphtérie et du choléra (*Arch. de méd. expér.*, V, 1893, p. 293).

dit, a une grande importance pour l'immunisation des animaux destinés à fournir le sérum antidiphtérique, il est utile de donner quelques détails sur sa préparation.

Préparation de la toxine diphtérique. — La première condition essentielle pour obtenir un liquide très actif est d'employer pour la culture un *Bacille diphtérique* très virulent. Un Bacille qui, inoculé sous la peau à la dose de 1 centimètre cube, tue un cobaye de 300 grammes environ en moins de trente-six heures, peut être considéré comme tel. On a intérêt à l'avoir le plus virulent possible, la production de toxine étant d'ordinaire en rapport direct avec la virulence ; un Bacille qui tuerait le cobaye en vingt-quatre heures environ, dans ces conditions, peut être considéré comme tout à fait satisfaisant. Cependant Roux fait remarquer que parfois un Bacille virulent ne produit que peu de toxine ; le mieux est donc de se servir d'un microbe bien éprouvé à ce point de vue par des opérations antérieures.

On aura souvent avantage à exalter la virulence et le pouvoir toxigène du Bacille dont on veut faire usage. On y parvient aisément en le faisant repasser une ou plusieurs fois par le cobaye, en simple inoculation sous-cutanée, ou mieux en faisant des passages en sacs de collodion dans le ventre de lapins (p. 585).

Toutefois, il faut savoir que la virulence et la puissance toxigène d'un *Bacille diphtérique* sont deux propriétés distinctes, qui ne marchent souvent pas de pair, comme le démontre trop fréquemment la pratique du laboratoire. Un Bacille très virulent, comme le démontre l'inoculation au cobaye d'une culture d'un ou deux jours, peut fort bien ne donner qu'une toxine peu active. D'autre part, un Bacille peu ou pas virulent pour le cobaye, qu'on serait porté à regarder comme un *Bacille pseudo-diphtérique* lors d'un diagnostic, donne parfois une toxine réellement active ; c'est là, on peut le croire, la raison de l'apparition trop fréquente de graves accidents d'intoxication dans le cours de diphtéries reconnues comme bénignes.

Il n'est pas possible de se baser sur le fait de la formation ou de la non-formation de voile dans les cultures en bouillons, des expérimentateurs prétendant que les Bacilles ne formant pas de voiles ne sont pas suffisamment toxiques. On obtient fréquemment des toxines très actives avec un microbe qui ne forme pour ainsi dire pas de voile, et des produits peu actifs avec des cultures où le microbe a donné des voiles superbes.

Lorsqu'on cultive un Bacille bien actif dans du bouillon de bœuf ou de veau peptonisé à 2 p. 100, légèrement alcalinisé, on remarque que le liquide devient acide dans les premiers jours, puis, qu'au bout d'un temps plus long, il redevient alcalin. Tant que la culture est acide, son pouvoir toxique est peu considérable ; il est nécessaire d'en injecter une grande quantité au cobaye pour déterminer chez lui l'intoxication diphtérique aiguë. L'acidité dépendrait de la présence de sucres dans le milieu ; il est donc à recommander d'employer des matériaux dépourvus de sucres ; c'est la raison pour laquelle le bouillon à la viande de cheval ne convient pas. Lorsque la réaction alcaline a réapparu, la puissance toxique a beaucoup augmenté. Après sept ou huit jours à l'étuve à 37°, le liquide légèrement acide ne détermine rien chez le cobaye à la dose de 2 à 4 centimètres cubes ; il faut employer des doses véritablement massives, une

trentaine de centimètres cubes, en injection dans le péritoine, pour tuer l'animal en cinq ou six jours. Cette dernière dose de liquide préparé avec une culture âgée de quarante-deux jours tue le cobaye en une dizaine d'heures. Des doses bien moindres, de 1/5e de centimètre cube à 2 centimètres cubes, inoculées sous la peau, tuent les cobayes dans un intervalle de temps variant de trois jours à vingt-quatre heures.

En somme, l'acidité du milieu paraît être la condition qui nuit surtout à la production de substance toxique par le microbe. Toutes les causes qui favorisent la production d'acide dans la culture sont défavorables pour la production d'un liquide bien actif et inversement. Aussi, au fond, le but de la plupart des procédés recommandés est d'empêcher plus ou moins cette formation d'acide au début des cultures ou de fixer l'acide dès qu'il est produit pour l'empêcher d'agir. On arrive ainsi, au moyen de divers artifices, à une production plus rapide et plus abondante de substance active.

Lorsqu'on arrive à empêcher l'acidité de se produire, la formation de toxine est beaucoup plus rapide et plus abondante. Les cultures faites dans de bonnes conditions peuvent atteindre leur maximum en une huitaine de jours. Au début, la marche du développement de la toxine est à peu près parallèle à celle des produits alcalins; puis le pouvoir toxique peut ensuite diminuer en même temps que l'alcalinité augmente encore (1).

Pour une rapide production de toxine, il paraît important de tenir les cultures en un repos parfait.

Toutefois, dans cette question d'acidité, tout ne dépend pas uniquement du milieu; le microbe lui-même peut être mis en jeu. Il est des races ou variétés qui donnent plus facilement de l'acide que d'autres dans un même milieu; l'expérience démontre que pour obtenir de bonne toxine, il faut de préférence choisir ces dernières.

Procédé de Roux et de Yersin. — Roux et Yersin ont remarqué que la toxicité du liquide augmentait plus rapidement et plus régulièrement quand la culture se faisait en présence d'air fréquemment renouvelé. Pour y arriver, on se sert avantageusement de ballons à fond plat munis d'une ou deux tubulures latérales (fig. 237 et 238) dans lesquels on met le bouillon en couche d'une faible épaisseur, 2 à 3 centimètres; dans de tels ballons, d'une capacité suffisante, on peut facilement mettre de 4 à 500 centimètres cubes de bouillon. Ces ballons, fermés par un tampon d'ouate, sont stérilisés à l'autoclave à 120°, puis ensemencés avec une culture rajeunie et portés à l'étuve à 37°. Après vingt-quatre heures, lorsque le développement a commencé et que le bouillon est nettement troublé, on place dans l'orifice du col, par-dessus le tampon d'ouate, un bouchon de caoutchouc muni d'un tube de verre relié à un flacon barboteur par où se fait l'aspiration d'air (fig. 237). L'interposition du flacon barboteur est nécessaire pour éviter l'évaporation du liquide de culture. La tubulure latérale du ballon est reliée à une trompe à eau qui fait l'aspiration. Les différents tubes du flacon et du ballon sont munis de tampons d'ouate destinés à éviter toute contamination de la culture par l'air. Toutes les parties de l'appareil sont du reste stérilisées à l'autoclave avant leur ajustement. On règle facilement le courant d'air à l'aide du débit de la trompe et de vis de pression qu'on place sur les tubes de caoutchouc. On peut

(1) Cobbett, Contribution à l'étude de la physiologie du Bacille diphtérique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 251).

opérer en même temps sur un assez grand nombre de ballons que l'on relie à des tubulures latérales d'une rampe de cuivre réunie à la trompe ; il est ainsi possible de préparer d'un seul coup de grandes quantités de toxine diphtérique. Après trois semaines, un mois au plus, la culture est suffisamment riche en substance active ; son activité n'augmente du reste plus sensiblement, elle tendrait plutôt à diminuer. Ces cultures achevées sont filtrées sur bougie Chamberland, dans l'appareil représenté figure 86, page 209, ou tout autre similaire.

Dans ces conditions, un Bacille bien virulent donne une toxine qui tue un cobaye de 300 grammes en moins de quarante-huit heures à la dose de 1/10e de centimètre cube en inoculation sous-cutanée.

La forme de ballon représentée figure 238 permet un renouvellement plus complet de l'air à la surface de la culture. Une des tubulures

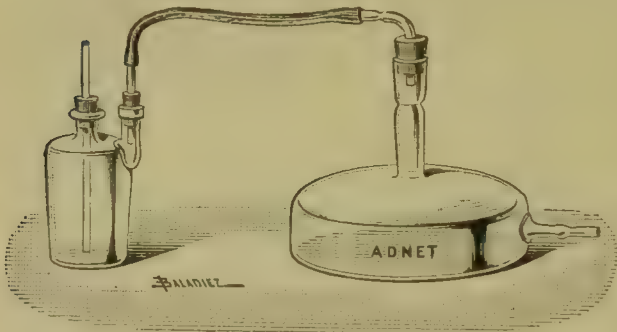


Fig. 237. — Ballon Fernbach pour courant d'air.

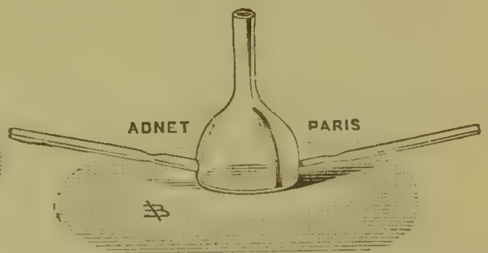


Fig. 238. — Ballon à deux tubulures.

latérales est reliée au barboteur, l'autre à la trompe ; l'orifice du col est obturé par un bouchon de caoutchouc plein.

Cette méthode facile et sûre de préparer la toxine diphtérique présente toutefois des inconvénients. C'est d'abord le temps assez considérable que la culture met à gagner une activité suffisante, puis surtout l'embarras que peut causer l'installation d'un grand nombre d'appareils dans les étuves ordinaires.

Premier procédé de Spronck. — Spronck (1) attribue à la présence de glucose dans les bouillons la difficulté et la lenteur que peut avoir le Bacille diphtérique à produire de la substance toxique. Il explique même par le fait que la viande de cheval contient beaucoup plus de glucose que celle de bœuf ou de veau le peu de toxicité des bouillons à la viande de cheval signalé par Smirnow (2). Il conseille, pour éliminer la glucose, de faire usage d'une viande qu'on aura laissé vieillir autant que possible, même jusqu'à commencement de putréfaction, et d'avoir soin d'employer une peptone dépourvue de glucose. Il recommande en outre d'ajouter au bouillon 0gr,5 p. 100 de chlorure de sodium, une petite quantité de carbonate de chaux. D'après lui, en usant d'un Bacille très virulent, cultivé dans des bouillons ordinaires, on obtient

(1) Spronck, Sur les conditions dont dépend la production du poison dans les cultures diphtériques. Moyen simple de préparer une toxine très active (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 758).

(2) Smirnow, Ueber die Behandlung der Diphterie mit küntslichen dargestellten Antitoxinen (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1895, n° 30).

au bout de treize jours une toxine qui tue un cobaye de 500 grammes dans les quarante-huit heures à la dose de 1/10e de centimètre cube.

J'ai mis très fidèlement en œuvre le procédé de Spronck; en partant d'un Bacille tuant le cobaye en vingt-trois heures à la dose de un demi-centimètre cube, qui donnait par la méthode de Roux une toxine tuant en trente-six heures, à la dose de 1/10e de centimètre cube, un cobaye de 300 grammes, je n'ai pu obtenir qu'une toxine infiniment moins active que cette dernière, ne tuant le cobaye qu'en six à huit jours.

Procédé de Nicolle. — Nicolle (1) dit obtenir toujours une toxine active en opérant de la façon suivante : de la viande de bœuf tué le matin même est hachée et mise à macérer une nuit à une température de 10° à 12° (500 grammes de viande pour un litre d'eau). La macération, additionnée de 2 p. 100 de peptone et de 0,5 de sel, est portée à l'ébullition, puis filtrée, alcalinisée assez fortement et chauffée dix minutes à 120°; puis filtrée à nouveau et répartie dans des vases quelconques à raison d'un ou deux litres par vase. Le tout est stérilisé à 115 degrés.

Avec un Bacille virulent, après cinq jours à 37°, sans courant d'air, la culture filtrée tue un cobaye de 500 grammes en un peu plus de quarante-huit heures, à la dose de 1/10e de centimètre cube; après sept jours, elle le tue en moins de quarante-huit heures.

En employant un Bacille tuant en vingt heures un cobaye de 430 grammes et donnant une toxine très active par le procédé de Roux, je n'ai pu obtenir à diverses reprises, par ce procédé, que des toxines plus faibles, ne tuant le cobaye, de 400 grammes environ, qu'en soixante, soixante-dix heures et plus; de plus, cette toxine a déterminé beaucoup d'œdème.

Procédé de Park et Williams. — Park et Williams (2) conseillent d'employer des bouillons de culture bien alcalinisés. Les meilleurs résultats seraient obtenus avec du bouillon qui, alors qu'il est bien neutre au tournesol, est additionné de 7 centimètres cubes de soude normale par litre. Ceci correspond à un bouillon donnant une réaction alcaline nette, avec de la bonne teinture de tournesol.

Procédé de L. Martin. — L. Martin (3) recommande tout spécialement ce qu'il appelle le *bouillon de panse*, liquide peptonisé fabriqué avec des estomacs de porcs.

Pour l'obtenir, on prend des estomacs de porcs propres, et on broie ou hache ensemble les tuniques muqueuses ou musculaires. Pour éviter les variations provenant de causes individuelles, il est préférable d'opérer sur plusieurs estomacs à la fois.

Le hachis obtenu est mis à macérer de douze à vingt-quatre heures, à 50°, dans de l'eau acidulée, dans les proportions suivantes :

Hachis d'estomac de porc	200 grammes.
Acide chlorhydrique	10 —
Eau	1000 —

(1) Nicolle, Préparation de la toxine diphtérique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 333).

(2) Park et Williams, The production of diphteriakoxiu (*Journ. of exper. Med.* I, 1897, p. 164).

(3) Martin, Production de la toxine diphtérique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 26).

On peut avec avantage ajouter des morceaux d'organes, poumons, intestins, muscles ; la quantité de pepsine est suffisante pour qu'il y ait profit à le faire.

Après le temps voulu, on chauffe à 100° pendant quelques minutes pour détruire la pepsine, on filtre sur une couche de coton hydrophile peu serré, on chauffe et on alcalinise au moment où le liquide atteint environ 80°. On filtre sur papier, on chauffe à 120°, filtre à nouveau sur papier et répartit dans des vases de culture, qu'on stérilise à 115°. Il est encore préférable, après alcalinisation, de chauffer le liquide tous les deux jours à 100° ; après trois ou quatre chauffages, le liquide se clarifie bien.

Dans ce milieu, le Bacille de la diphtérie se développe sans produire d'acide ; la toxine obtenue est très active. En ajoutant parties égales de macération de viande de veau à 35°, à ce bouillon de panse, alcalinisant nettement, chauffant à 70° et stérilisant par chauffage à 100° ou filtration sur bougie, les résultats sont encore meilleurs.

Toutefois, ce procédé, mis en œuvre très fidèlement, donne aussi des insuccès ; il est bon d'en être prévenu.

Deuxième procédé de Spronck. — Spronck (1) a préconisé la décoction de Levure. Un kilogramme de Levure de commerce, non de Levure de brasserie, est délayé dans 5 litres d'eau ; le tout est mis à bouillir pendant vingt minutes en agitant constamment avec une spatule. La décoction est versée dans un ou plusieurs vases cylindriques et laissée en repos pendant vingt-quatre heures. La Levure se sépare en laissant au-dessus d'elle un liquide louche qu'on décante. A ce liquide légèrement acidulé, on ajoute par litre 5 grammes de sel marin et 20 grammes de peptone Witte de Rostock ; on neutralise avec de la soude et on ajoute encore par litre 7 centimètres cubes d'une solution de soude normale. On chauffe, filtre sur papier, répartit dans des matras et stérilise à 120 degrés.

Procédés plus simples. — On réussit tout aussi bien en employant la simple méthode suivante, basée sur l'addition de craie seule : du bouillon de viande de bœuf peptonisée à 2 p. 100, additionné de craie en excès (10 grammes par litre environ), est réparti dans des ballons de 1 à 2 litres, stérilisé à 115°, puis ensemencé avec un Bacille virulent et simplement placé à l'étuve à 37°. Le bouillon, filtré après un mois ou six semaines, tue un cobaye de 340 à 400 grammes en trente-six heures à la dose de 1/10e de centimètre cube. Cette observation démontre bien que la production d'acide dans le milieu est la cause réelle de la lenteur et de la difficulté dans la formation de substance active.

Après filtration, le liquide sera recueilli dans des ballons ou des tubes scellés à la lampe, à l'abri surtout de la lumière qui exerce sur la toxine une action destructive très marquée. Elle peut ainsi se conserver pendant des mois sans perdre sensiblement de son activité.

(1) Spronck, Préparation de la toxine diphtérique ; suppression de l'emploi de la viande (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 701).

On obtient aussi d'excellents résultats en se servant de la macération de viande de Lœffler (*Fleisch-infus-pepton*, p. 177) qu'on alcalinise à la soude jusqu'à réaction alcaline très nette au papier de tournesol, ou bien à laquelle on ajoute, après neutralisation aussi exacte que possible, 7 centimètres cubes de solution normale de soude.

Tous ces détails montrent qu'on est encore loin de pouvoir obtenir toujours et régulièrement une toxine très active. Même en se mettant dans les conditions qui semblent bonnes pour réussir, on constate souvent des insuccès que l'on ne peut pas expliquer. D'où il faut conclure qu'il est absolument nécessaire d'essayer soigneusement l'activité d'une toxine chaque fois qu'on en prépare pour l'usage.

Propriétés de la toxine diphtérique. — Les effets physiologiques de la toxine diphtérique seront étudiés plus loin (p. 600).

On n'est pas encore bien fixé sur la nature de la substance toxique ainsi produite. Roux et Yersin pensent qu'elle doit être rapprochée des diastases. Elle en présente en effet une partie des propriétés.

Elle est très sensible à l'action de la chaleur; son activité est modifiée et d'autant plus profondément que la température est plus élevée et plus longtemps prolongée. La toxine chauffée pendant deux heures à 58°, même à l'abri de l'air, perd de son pouvoir toxique et ne détermine plus que de l'œdème chez le cobaye, même à la dose d'un centimètre cube; chauffée à 65°, elle n'est presque plus toxique; à 70°, elle est inoffensive; chauffée pendant vingt minutes à 100°, on peut en injecter 35 centimètres cubes dans les veines d'un lapin sans lui causer aucun malaise immédiat. Un tel liquide chauffé n'est cependant pas inoffensif; les animaux qui en reçoivent de fortes doses maigrissent lentement, peuvent présenter des symptômes de paralysie, surtout dans les membres postérieurs, et finissent par succomber, souvent dans un véritable état de cachexie, après cinq ou six mois. C'est probablement le résultat de la complexité de cette toxine qui doit renfermer plusieurs principes à effets différents, dont un ou quelques-uns seulement sont influencés par la chaleur.

Comme on l'observe pour la diastase pancréatique, l'activité de la toxine diphtérique diminue en présence des acides; il ne faut même qu'une petite quantité d'acide pour en diminuer notablement l'énergie. L'acide lactique, l'acide tartrique produisent plus d'effet que l'acide phénique, l'acide borique; les deux premiers réduisent l'action de la toxine à de simples effets locaux, plus ou moins intenses; les deux seconds ne font que retarder la mort. Il n'y a pas ici modification de la substance toxique, car la neutralisation fait reparaître, à peu de chose près, l'activité première.

En présence de la lumière, elle s'altère à l'air et peut devenir inoffensive; à l'abri de l'air, elle ne s'altère pas à la lumière.

Elle est rapidement rendue inoffensive par l'ozone; tous les oxydants (permanganate de potasse, hypochlorites), l'iode diminuent la toxicité.

L'alcool précipite la substance toxique de ses solutions. Comme on l'observe avec les enzymes dans les milieux albumineux, toute la substance toxique est contenue dans le précipité albumineux que donne l'addition d'alcool. Mais l'action prolongée de l'alcool finit par l'altérer, ainsi que des précipitations successives.

Elle est entraînée par certains précipités minéraux qui se forment dans le liquide, le précipité de phosphate tribasique de chaux par exemple. Avec un même bouillon, on peut faire des précipitations successives sans arriver à priver totalement le liquide de substance active ; toutefois, les précipités sont de moins en moins toxiques. Son adhérence aux précipités est très évidente ; elle n'en diffuse que peu à peu, comme cela se produit avec les corps microbiens.

Elle est précipitée par les réactifs qui précipitent les albumoses, surtout le sulfate de soude et le sulfate d'ammoniaque en solutions saturées.

Ce sont là des caractères qui la rapprochent beaucoup des diastases.

Ce sont les recherches de Roux et Yersin qui ont donné sur cette substance les renseignements les plus complets.

Le liquide filtré, la toxine brute, lorsqu'on l'évapore sur l'acide sulfurique, dans le vide à une température de 25°, donne un résidu très complexe, puisqu'il renferme les éléments du bouillon inattaqués ou modifiés par la vie microbienne, qui, dissous dans un peu d'eau, se montre extrêmement toxique ; il contient sous un petit volume la matière active d'une grande quantité de culture. L'alcool à 80° dissout une partie de cet extrait sec ; le résidu donné par son évaporation, brun, d'odeur agréable, est inoffensif pour le cobaye. La substance toxique, insoluble dans l'alcool, se retrouve en entier dans la partie insoluble de ce réactif. Cette partie, dissoute dans un peu d'eau, est extrêmement active sur les cobayes et les lapins ; l'alcool fort précipite la substance toxique de cette solution sous forme de flocons grisâtres. Dans un litre de culture filtrée, il peut y avoir environ un dixième de milligramme de toxine pure.

Si l'on soumet l'extrait dissous dans l'eau à la dialyse, on remarque que la substance toxique dialyse très lentement ; ce qui peut expliquer la production de l'action locale après l'inoculation et la lenteur de l'apparition des effets généraux.

La précipitation par l'alcool affaiblissant toujours notablement l'activité des diastases, il vaut mieux recourir à l'entraînement par les précipités salins. Celui qui réussit le mieux ici est le phosphate de chaux. Roux et Yersin recommandent de recourir à une précipitation fractionnée, en ajoutant goutte à goutte et en agitant une solution de chlorure de calcium ; la double réaction se produit avec les phosphates contenus dans le milieu. Après chaque précipitation, le pouvoir toxique du liquide filtré diminue de plus en plus ; le liquide soumis à une série de précipitations successives ne perd cependant pas complètement sa toxicité.

Le précipité phosphatique est très toxique pour le cobaye, plus à l'état humide que desséché. Le précipité sec peut être conservé longtemps à l'air, être chauffé à 70°, sans que son activité soit diminuée ; humide, il est beaucoup plus sensible à ces actions. Traité par l'alcool à 80°, il ne cède presque rien ; l'alcool évaporé laisse cependant percevoir l'odeur agréable signalée précédemment. Ce précipité ne contient naturellement qu'une minime proportion de substance active ; 2 centigrammes du précipité humide tuent un cobaye en quatre jours, en inoculation sous-cutanée ; ces 2 centigrammes correspondent à un poids de matière organique inférieur à deux dixièmes de milligramme, et cette

matière organique renferme certainement encore des matières inertes à côté de la substance active.

Brieger et Fraenkel (1) ont obtenu des résultats très semblables à ceux de Roux et Yersin, en étudiant la substance toxique produite par le *Bacille de la diphtérie* dans les cultures. Ils l'obtiennent en précipitant à 30°, par le sulfate d'ammoniaque, les bouillons de culture filtrés sur porcelaine. Le sel qui peut rester dans le précipité est éliminé par la dialyse, jusqu'à ce que l'eau qui se sépare ne précipite plus le chlorure de baryum. Le résidu est desséché dans le vide, à 40°. C'est alors une substance amorphe, floconneuse, très légère, d'un blanc éclatant, possédant beaucoup des réactions des albumines solubles. Elle est très soluble dans l'eau, ne précipite pas par l'ébullition, par l'acétate de plomb, par l'acide nitrique étendu, même à chaud; elle précipite, au contraire, par l'acide carbonique en solution chargée, par les acides minéraux concentrés, l'acide acétique, l'acide phénique, le sulfate de cuivre, le nitrate d'argent, le bichlorure de mercure. Elle ne donne aucun résultat positif avec les réactifs des alcaloïdes; par contre, elle donne d'une façon très nette la réaction du biuret, celle de la xanthoprotéine et la coloration rouge avec le réactif de Millon, caractéristiques des matières albuminoïdes vraies, ce qui permet d'affirmer que c'est un dérivé de l'albumine. Pour eux, c'est une *toxalbumine* provenant de la transformation des albumines du milieu. Ces auteurs disent même avoir pu déterminer sa composition centésimale, qui se rapproche beaucoup de celle de la sérine; ils lui attribuent la formule suivante :

C	47,35
H	7,13
Az	16,33
S	1,39
O	29,89

Toutefois, la substance qu'ils ont obtenue présente une toxicité notablement moindre que celle du produit isolé par Roux et Yersin. Tandis que ces derniers tuent un cobaye par l'inoculation sous la peau de deux dixièmes de milligramme de leur substance toxique, les auteurs allemands doivent, pour arriver au même résultat, inoculer 10 milligrammes de celle qu'ils ont obtenue par leur méthode. Ce qui semble démontrer qu'ils n'isolent par leur procédé qu'un mélange complexe, ne contenant qu'une petite proportion de matière réellement toxique.

Dans les bouillons de cultures atténuées, on rencontre, d'après eux, une substance albuminoïde présentant les mêmes réactions, mais non toxique. Ils lui attribuent la constitution suivante:

C	49
H	7
Az	15
S	2,23
O	26,97

Wassermann et Proskauer (2) sont arrivés à de semblables résultats.

(1) Brieger et Fraenkel, Untersuchungen über Bacteriengifte (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1890, nos 11 et 12).

(2) Wassermann et Proskauer, Ueber die von den Diphteriebacillen erzeugten Toxalbumine (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1891, n° 17).

Mais pour eux on n'obtiendrait pas de cette façon le poison diphtérique pur ; le précipité serait en grande partie formé d'albumoses du milieu de cultures ayant entraîné mécaniquement la substance toxique.

Brieger et Boer (1) ont décrit récemment une autre méthode, plus pratique, pour obtenir la toxine diphtérique. La toxine est traitée par le double de son volume d'une solution de chlorure de zinc à 1 p. 100. Le précipité zincique, lavé avec soin, est fortement agité avec une solution de bicarbonate d'ammoniaque à 3 p. 100, ou à 6 p. 100 pour les grandes quantités de liquide, solution dont on prend un volume égal au volume de toxine mis en œuvre. Ensuite, on ajoute une quantité suffisante de phosphate d'ammoniaque (ce qui peut précipiter déjà une partie de toxine) jusqu'à redissolution complète, et qu'il ne reste qu'un trouble dû au phosphate de zinc. On laisse déposer ce fin précipité blanc, on filtre sur papier dur pour recueillir le précipité métallique, on lave bien et on sature le filtratum avec du sulfate d'ammoniaque. Le précipité qui se forme alors renferme quantitativement la substance toxique diphtérique. On redissout ce précipité dans l'eau, on l'agite avec du sulfate de soude finement pulvérisé ; on peut ainsi, en procédant à plusieurs reprises, éliminer les peptones qui ont été éventuellement précipitées avec la toxine, peptones qui se trouvent encore en mélange dans le filtrat du précipité formé par le sulfate de soude avec une plus ou moins grande quantité de toxine. Quand on opère sur des liquides riches en albumine, on n'arrive pas par ce procédé à éliminer complètement l'albumine. On peut cultiver le Bacille diphtérique sur les milieux dépourvus d'albumine; les auteurs, à l'exemple de Guinochet, donnent la préférence à l'urine humaine dialysée. On n'obtient ainsi que peu de toxine, mais elle est dépourvue d'albumine et de peptones.

La toxine pure ainsi obtenue ne présente pas les réactions des albumines ni des peptones. Elle est optiquement inactive et se comporte d'une façon tout à fait passive envers les réactions habituelles de la chimie organique. L'alcool, l'éther, l'acétone, la décomposent rapidement ; de même les acides, même l'acide carbonique ; tandis que dans les solutions alcalines faibles ses propriétés biologiques ne se modifient pas. Les agents oxydants, comme le permanganate de potasse, même en solutions extrêmement faibles et très faiblement alcalinisées, la décomposent presque instantanément, tandis que les substances faiblement réductrices, comme le sulfate de fer, en solutions faiblement alcalines, ne modifient pas sa puissance, même après vingt-quatre heures.

Les corps bacillaires dont on a extrait complètement la toxine par une agitation de plusieurs heures (18 à 20) avec une solution concentrée de chlorure ammonique, ou, comme le conseille Kossel (2), par un lavage au carbonate de soude ou à la lessive de soude, renferment encore une substance active qui, inoculée à faible dose sous la peau des cobayes, détermine en quarante-huit heures des accidents locaux de suppuration et de nécrose tout spéciaux.

(1) Brieger et Boer, Ueber die Toxine der Diphterie und der Tetanus (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1896, n° 49).

(2) Kossel, Zur Kenntniss des Diphteriegiftes (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 977).

Gamaléia (1), se basant sur l'action qu'exercent la pepsine et la trypsine sur le poison diphtérique, le considère comme une nucléo-albumine.

Ces deux ferments, la trypsine surtout, la décomposent et en séparent une substance à effets toxiques éloignés; les cobayes ne succombent plus à l'intoxication aiguë par la toxine diphtérique, mais maigrissent, deviennent cachectiques et succombent après un temps assez long. Ce poison cachectisant qui est détruit par le chauffage en présence d'alcalis fixés paraît être une nucléine. D'après lui, la plupart des substances microbiennes toxiques actuellement connues seraient des nucléo-albumines ou des nucléines.

Cette action destructive de la pepsine en solution acide doit certainement être regardée comme un des procédés de défense de l'organisme (2).

Guinochet (3) de son côté, en cultivant le *Bacille de la diphtérie* dans de l'urine dépourvue de matières albuminoïdes, démontre que la substance toxique ne dérive pas nécessairement des albuminoïdes.

Les recherches d'Outchinsky (4), sur des cultures faites avec sa solution minérale (p. 581), prouvent aussi que la substance toxique ne provient pas de la décomposition des albuminoïdes du milieu, mais est formée synthétiquement par le microbe, dans le corps cellulaire même.

Cette substance toxique ne se rencontre pas seulement dans les milieux de culture du microbe, mais elle a été rencontrée aussi dans les humeurs d'animaux infectés expérimentalement, urine, exsudats séreux, etc. Brieger et Wassermann (5) ont vu mourir en trois et dix jours, avec les symptômes caractéristiques de l'intoxication par le poison diphtérique, deux cobayes auxquels ils avaient inoculé respectivement 5 et 0,5 centimètres cubes de sérum sanguin d'animal diphtérique filtré sur porcelaine.

D'après Ehrlich (6), le *Bacille diphtérique* produirait dans les bouillons de culture deux sortes de substances qu'il nomme les unes *toxines*, les autres *toxones*. Ces deux groupes jouissent de la propriété de neutraliser ou fixer de l'antitoxine, mais ont une virulence bien différente ; la virulence de la toxone est très peu marquée ou même nulle. Dans les bouillons filtrés, au contact de l'oxygène, les toxines se transforment en *toxoïdes* qui fixent aussi de l'antitoxine, mais ne présentent pas de pouvoir pathogène ou seulement très peu.

Les toxines elles-mêmes peuvent être subdivisées en trois groupes de produits qui diffèrent entre eux par le degré de leur affinité pour l'antitoxine, les *prototoxines*, les *deutérotoxines* et les *tritoxines*, en ordre décroissant d'affinité.

Dans chaque équivalent du poison diphtérique, il y a donc, d'après lui, deux groupements atomiques indépendants, le groupement *hapto-*

(1) Gamaléia, Action des ferments solubles sur le poison diphtérique (*Soc. de Biol.*, 20 février 1892).

(2) Charrin et Lefèvre, Action de la pepsine sur la toxine diphtérique (*Soc. de Biol.*, 31 juillet 1897).

(3) Guinochet, Contribution à l'étude de la toxine du Bacille de la diphtérie (*Soc. de Biol.*, 1892, p. 480).

(4) Outchinsky, Nature des poisons de la diphtérie et du choléra (*Arch. de méd. expér.*, 1893).

(5) Brieger et Wassermann, *Centralbl. für Bakt.*, XII, 1892, p. 725.

(6) Ehrlich, Ueber die Konstitution des Diphteriegiftes (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1898, n° 38).

phore, possédant des propriétés exclusivement fixatrices, et le groupement *toxophore*, produisant les effets toxiques spécifiques du poison.

D'après Madsen (1), si les toxines seules possèdent la propriété de causer une intoxication aiguë, les autres éléments jouissent aussi de propriétés pathogènes ; les toxones en particulier produisent des paralysies tardives.

Inoculation expérimentale.

Le *Bacille de la diphtérie* est pathogène pour la plupart des animaux d'expérience.

Les *rats* et les *souris* sont réfractaires et résistent aux inoculations de doses considérables de produits virulents.

Inoculation au cobaye.

Le *cobaye* est excessivement sensible, c'est l'animal de choix, le véritable réactif expérimental du *Bacille de la diphtérie* ou de ses produits toxiques. Aussi est-il important de bien connaître chez lui les symptômes de la diphtérie expérimentale ; ils ont, du reste, été décrits magistralement par Roux et Yersin.

Inoculation sous-cutanée. — C'est le procédé qui donne les résultats les plus constants et les plus comparables. Suivant la virulence de la culture employée, l'injection sous la peau d'un demi-centimètre à 1 centimètre cube de bouillon de culture récente tue le cobaye dans un intervalle de temps qui varie entre vingt-quatre heures et deux ou trois jours, pour les cultures virulentes. A l'autopsie, les lésions consistent en un enduit membraneux, grisâtre, limité au point d'inoculation, sorte de petite fausse membrane, en un œdème gélatineux, plus ou moins étendu, des parties avoisinantes, et en une dilatation générale des vaisseaux qui se traduit par la congestion des ganglions et des organes internes, surtout des capsules surrénales absolument gorgées de sang. Le plus souvent, on trouve un épanchement séreux ou séro-sanguinolent de la plèvre et du péricarde ; parfois le tissu pulmonaire est splénisé.

Inoculation intrapéritonéale. — Les résultats obtenus sont plus lents ; les cobayes meurent quatre ou cinq fois moins vite, avec la même dose de culture, qu'en inoculation sous-cutanée.

Inoculation sur les muqueuses. — En excoriant les muqueuses du pharynx, de la conjonctive, de la vulve, ou en les brûlant légèrement avec une baguette de verre chauffée, et touchant la place lésée avec un fil de platine chargé de culture, on observe la production de fausses membranes typiques. En trachéotomisant un cobaye, lui excoriant la muqueuse trachéale et l'ensemençant de cette manière, on observe la production d'un véritable croup avec fausses membranes ; la plaie faite se referme vite ; au fur et à mesure que les fausses membranes se développent dans la trachée, la respiration devient de plus en plus gênée et bruyante, la mort survient en trois jours.

Le simple badigeonnage sur une muqueuse saine ne produit rien.

Inoculation au lapin.

Inoculation sous-cutanée. — Le lapin résiste en général plus que le

(1) Madsen, La constitution du poison diphtérique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 569 et 801).

cobaye. L'injection de cultures de virulence moyenne ne produit même souvent que des accidents locaux, une nécrose des tissus au point d'inoculation. Avec des cultures virulentes, il faut injecter de 2 à 4 centimètres cubes pour le tuer. La mort survient en quatre ou cinq jours. On trouve un œdème très étendu au point d'inoculation, un gonflement des ganglions de la région, une congestion de l'épiploon et du mésentère avec de petites ecchymoses le long des vaisseaux ; le foie est jaune, friable, en état de dégénérescence graisseuse ; l'épanchement pleurétique est exceptionnel ; les poumons sont presque toujours intacts.

Inoculation intraveineuse. — A la suite d'une injection de 1 centimètre cube de culture, les lapins meurent en général en moins de soixante heures. Ils présentent une congestion générale des organes abdominaux, le gonflement des ganglions, une néphrite aiguë et très souvent l'altération du foie citée plus haut.

Inoculation sur les muqueuses. — On observe les mêmes résultats que chez le cobaye. L'inoculation trachéale après trachéotomie s'obtient encore plus facilement. L'affection produite rappelle tout à fait le croup de l'homme : respiration bruyante et pénible, gonflement des ganglions du cou et des tissus environnants, trachée congestionnée et tapissée de fausses membranes.

Inoculation au chien et autres animaux.

D'après Roux et Yersin, le *chien* est assez sensible au *Bacille de la diphtérie*. Un chien vigoureux pesant 8 kilos est mort en trois jours à la suite d'inoculation sous-cutanée d'une culture récente sur sérum. Un œdème se développa au point d'inoculation ; l'animal tomba dans la stupeur, devint incapable de faire un mouvement et mourut après une paralysie complète. Un autre chien inoculé avec la même culture dans la trachée présenta un gonflement du cou avec prostration complète et mourut le quatrième jour tout à fait paralysé. A l'autopsie, il n'y avait pas de fausses membranes dans la trachée. Ces deux chiens présentèrent avant leur mort un ictère très marqué.

Klein a réussi, en inoculant des *chats*, à les tuer en six à treize jours. Il aurait aussi fait périr deux *vaches* par l'inoculation de 1 centimètre cube de culture sous la peau de l'épaule. Toutes deux présentèrent des vésico-pustules sur les trayons. Le sang ne contenait pas de *Bacille de la diphtérie* ; le liquide des pustules et le lait en ont donné des cultures dans un des cas ; des chats nourris avec ce lait auraient pris la diphtérie.

Les *pigeons* succombent en moins de soixante heures à l'inoculation sous-cutanée ou intramusculaire de 1 centimètre cube de culture virulente. On trouve un petit enduit grisâtre au point d'inoculation et un œdème gélatineux des tissus. Ils succombent encore avec des doses inférieures à un demi-centimètre cube, mais se rétablissent le plus souvent lorsqu'ils sont inoculés avec 1/5e de centimètre cube. On peut aussi leur donner la diphtérie trachéale avec fausses membranes. Les *poules* se comportent de la même façon.

Les *petits oiseaux* sont de tous les animaux les plus sensibles à l'action du microbe de la diphtérie ; on réussit à tuer le moineau ou le pinson avec des Bacilles peu virulents pour le cobaye.

Inoculation de cultures anciennes.

Lorsque l'on inocule des cultures anciennes, conservées à l'air, mais à l'abri de la lumière, pendant quelques mois, la mort tarde à venir ; on observe alors des symptômes différents de ceux qui se passent lorsque les animaux succombent à une intoxication rapide. Dans ce cas, il se produit souvent de véritables *paralysies diphtériques*. On les observe surtout chez le lapin. La paralysie débute d'ordinaire par le train postérieur ; elle peut être rapidement progressive et envahir tout le corps en un ou deux jours, l'animal meurt par arrêt de la circulation et du cœur. Ou bien elle reste limitée pendant un certain temps aux pattes postérieures et ne gagne que lentement la partie antérieure ; la mort survient avec ou sans convulsions. Le pigeon guérit plus facilement de ces paralysies que le lapin.

A l'autopsie des lapins paralytiques, on trouve, quand la maladie n'a pas été trop longue, de la congestion des ganglions et des divers organes, un état graisseux du foie; quelquefois la consistance de la moelle épinière a paru diminuée.

Il n'y a cependant pas ici atténuation régulière des cultures ; de telles cultures en effet reprennent toute leur activité quand on les renouvelle.

Inoculation de la toxine diphtérique.

L'inoculation du bouillon de culture filtré sur porcelaine, de la toxine diphtérique réellement active, produit, chez les animaux sensibles, les mêmes effets que les inoculations des cultures vivantes ; il en est de même des produits plus ou moins purs obtenus en traitant la toxine par les procédés exposés plus haut.

Les *rats* et les *souris* sont tout aussi réfractaires à la toxine qu'aux cultures ; l'injection de doses de toxine capables de tuer rapidement un chien ne détermine chez eux aucun malaise. Roux et Yersin n'ont pu faire périr une souris blanche qu'avec une dose suffisante pour tuer quatre-vingts cobayes.

Le *cobaye* est également ici l'animal de choix. Selon la virulence et surtout la puissance toxigène de la culture employée pour préparer la toxine, la dose nécessaire pour déterminer rapidement chez le cobaye l'intoxication diphtérique aiguë varie entre 1/10e de centimètre cube, 1/5e de centimètre cube, 1 centimètre cube. En inoculation sous-cutanée, selon les doses employées et l'activité du produit, la mort survient en vingt-quatre heures ou en deux ou trois jours avec des symptômes identiques à ceux que l'on observe avec la culture vivante. Il se forme rapidement un œdème au point d'inoculation ; après douze, vingt-quatre heures ou plus, l'animal est hérissé, prostré, a la respiration haletante ; les membres postérieurs se paralysent, la respiration devient irrégulière, puis s'arrête ; la mort survient.

A l'autopsie, on remarque aussi partout la dilatation vasculaire signalée plus haut ; les ganglions sont congestionnés, les reins et les capsules surrénales sont foncés, gorgés de sang noir; il y a des ecchymoses le long des vaisseaux ; les plèvres et le péricarde contiennent un épanchement séreux plus ou moins abondant. L'animal inoculé maigrit très vite et peut perdre en vingt-quatre heures le quart ou le tiers de son poids.

Les *lapins* succombent comme les cobayes aux inoculations sous-cutanées ou intraveineuses de 1 à 4 centimètres cubes ; on observe les mêmes phénomènes paralytiques qu'avec les cultures vivantes.

Les lésions du myocarde sont fréquentes chez les animaux intoxiqués. Molard et Regaud (1) ont montré que les lésions pouvaient aller jusqu'à la destruction complète de la substance musculaire.

Roger et Bayeux (2), Coppez (3), Morax et Elmassian (4) ont obtenu avec la toxine diphtérique appliquée sur les muqueuses, même en l'absence de toute lésion, des lésions locales, parfois de véritables fausses membranes, ce qui peut faire attribuer à l'intoxication une part réelle dans la production de ces phénomènes dans la diphtérie.

Le système nerveux est souvent profondément atteint, comme le montrent les myélites obtenues par Enriquez et Hallion (5).

L'ingestion de toxine s'est toujours montrée inoffensive, même à fortes doses.

Chez le cobaye et le lapin, des doses très faibles ou de la toxine provenant de culture peu virulente ne déterminent qu'un œdème souvent très minime au point d'inoculation. L'animal semble se rétablir après quelques jours ; fréquemment, cependant, il maigrit et meurt cachectique après un temps variable, pouvant même présenter des symptômes de paralysie. L'amaigrissement peut être extrême et très rapide, la perte de poids, considérable.

Les *pigeons* et surtout les *petits oiseaux* meurent rapidement avec des doses très minimes.

Nocard a tué en trois jours un *mouton* auquel il avait inoculé sous la peau 5 centimètres cubes de toxine active ; l'animal est mort avec des accès de dyspnée.

La *vache* est sensible au poison diphtérique ; Roux et Nocard ont observé la mort à la suite de l'inoculation de 5 centimètres cubes de toxine active. La *chèvre* supporte mal également une dose un peu forte.

Le *cheval* supporte mieux la toxine. Parfois l'injection sous-cutanée de 2 à 5 centimètres cubes de toxine très active ne détermine qu'un œdème local qui se dissipe en quelques jours et un peu de fièvre. L'*âne* réagit beaucoup plus ; Roux a vu un ânon de six mois succomber à la suite d'une injection sous-cutanée de 1 centimètre cube de toxine. Nous reviendrons du reste sur l'action de la toxine chez ces animaux à propos de la production de l'immunité.

Behring établit de la façon suivante l'échelle de sensibilité à la toxine des principales espèces animales qui servent d'ordinaire aux expériences en commençant par les animaux les plus sensibles :

1° La Chèvre.	4° Le Mouton.	7° Le Chien.
2° Le Cheval.	5° Le Lapin.	8° Le Rat.
3° La Vache.	6° Le Cobaye.	9° La Souris.

(1) Molard et Regaud, Lésions du myocarde dans l'intoxication aiguë par la toxine diphtérique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 97).

(2) Roger et Bayeux, Sur le rôle de la toxine diphtérique dans la formation des fausses membranes (*Soc. de Biol.*, 13 mars 1897).

(3) Coppez, Des altérations cornéennes dans la diphtérie de l'œil et du traitement local par le sérum (*Revue gén. d'ophtalm.*, 1897, p. 197).

(4) Morax et Elmassian, Action de la toxine diphtérique sur les muqueuses (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 210).

(5) Enriquez et Hallion, Le système nerveux dans l'intoxication diphtérique expérimentale (*Soc. de Biol.*, 15 janvier 1898).

Introduite dans l'organisme, la toxine diphtérique n'agit pas immédiatement, comme le ferait un toxique minéral ou alcaloïdique ; il y a toujours, au contraire, une véritable période d'incubation pendant laquelle l'état de l'animal reste normal ou à peu près. C'est ce qui doit faire penser que la toxine n'agit pas directement par elle-même, mais plutôt secondairement, en provoquant peut-être des dédoublements de matières albuminoïdes d'où viendraient alors les vrais produits toxiques, probablement de nature albumosique (Sidney Martin).

Essai de la toxine. — On évalue l'activité d'une toxine diphtérique en déterminant la quantité minime qui amène la mort d'un cobaye de poids moyen, de 400 à 500 grammes, en un espace de temps assez court, quelques jours.

Une bonne toxine doit tuer un cobaye de 500 grammes environ en moins de quarante-huit heures à la dose de 1/10ᵉ de centimètre cube ; ou encore en moins de quatre à cinq jours à la dose de 1/50ᵉ de centimètre cube.

L'essai se fait en injectant la quantité nécessaire d'une dilution de la toxine dans l'eau stérilisée à 1 p. 10, 1 p. 50 ou 1 p. 100 en volumes.

Immunité et sérothérapie.

Immunisation des animaux. — Hoffmann (1) le premier, en 1887, dit avoir observé que des cobayes, inoculés avec des cultures âgées, qui s'étaient atténuées spontanément, se montraient réfractaires à l'inoculation de cultures fraîches de virulence éprouvée. C. Fraenkel (2) a obtenu le même résultat en injectant aux cobayes, avec précautions, de la toxine chauffée quelque temps à 70° ; pour lui, cette température détruisait la substance toxique et respectait une substance vaccinante qui l'accompagnait.

Les résultats de Behring (3) sont beaucoup plus complets. Il a pu conférer l'immunité aux cobayes et aux lapins par divers procédés. D'abord en employant la toxine chauffée à 70°, comme le faisait Fraenkel. Ensuite en inoculant des bouillons de culture âgés de trois semaines additionnés de trichlorure d'iode dans la proportion de 1 pour 500. En injectant à des animaux, déjà inoculés au *Bacille de la diphtérie*, diverses substances, du trichlorure d'iode, du chlorure double d'or et de sodium, de l'acide trichloracétique et même de l'acide phénique, ou en injectant préventivement d'une solution à 10 p. 100 d'eau oxygénée. Enfin, il obtenait cette même immunité, fait beaucoup plus important, à la suite de l'injection de l'exsudat pleural, privé de microbes, qu'il recueillait sur les cobayes morts à la suite d'inoculation de cultures virulentes.

Brieger, Kitasato et Wassermann (4) immunisent des cobayes en leur injectant des cultures de diphtérie dans des bouillons faits avec le thymus

(1) Hoffmann, Untersuchungen über den Löffler'schen Bacillus der Diphteriae (*Congrès de Wiesbaden*, 1887).

(2) Brieger et Fraenkel, Ueber Immunisierung Versuche bei Diphterie (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1890, nº 49).

(3) Behring, Untersuchungen über das Zustandekommen der Diphterie-Immunität bei Thieren (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1890, nº 50).

(4) Brieger, Kitasato et Wassermann, Ueber Immunität und Giftfestigung (*Zeitschr. für Hygiene*, XII, 1892, p. 254).

de veau. Il ne s'y produit que très peu de toxine que l'on affaiblit encore en chauffant pendant un quart d'heure à 65-70 degrés.

Roux (1) préfère se servir de toxine pure, injectée à doses très minimes d'abord, puis progressivement croissantes ; ou, pour le début au moins, de toxine affaiblie par l'addition de certaines substances, hypochlorites alcalins, hypochlorite de chaux et surtout solutions iodées. On ajoute à la toxine un tiers de son volume de la solution de Gram, au moment même de l'employer, et après quelques instants on injecte le mélange sous la peau. C'est à l'une ou l'autre de ces deux méthodes de Roux que l'on donne le plus souvent la préférence.

Nikanoroff (2) aurait obtenu une immunisation plus rapide et un sérum antitoxique plus actif en injectant en même temps du sérum antidiphtérique et de la toxine.

L'immunisation solide des lapins et cobayes, par ces diverses méthodes, est toujours une opération délicate. Il faut procéder avec beaucoup de ménagements, espacer les premières injections, peser fréquemment les animaux et suspendre les injections quand on constate qu'ils diminuent de poids, sans quoi ils deviendraient cachectiques et finiraient par périr.

On peut inoculer d'emblée à un lapin de moyenne taille un demi-centimètre cube du mélange de toxine et de solution de Gram ; l'injection peut se faire à l'extrémité de l'oreille, sous la peau de la face interne. Il se produit, quelques heures après l'injection, un œdème assez fort qui disparaît au bout de quelques jours ; on renouvelle l'injection et on continue ainsi pendant quelques semaines ; on peut après ce temps diminuer la proportion d'iode pour arriver à donner de la toxine pure dont les doses pourront être progressivement augmentées.

L'immunisation des grands animaux est généralement plus facile à obtenir. Elle présente un intérêt tout spécial au point de vue de l'obtention de sérum antitoxique.

Le *chien* supporte bien le poison diphtérique ; Bardach (3), Aronson, Wernicke (4) ont facilement réussi à en immuniser.

La *chèvre* et le *mouton* sont très sensibles ; Behring et Roux remarquent que les chèvres surtout deviennent souvent cachectiques, même longtemps après le début de l'expérience. Ehrlich et Wassermann (5) ont réussi sur les chèvres avec les cultures vivantes et avec la toxine.

La *vache* est aussi très sensible. Nocard et Roux en ont vu succomber une, en cours d'immunisation, à la suite d'une injection de 5 centimètres cubes de toxine. Il faut donc procéder, pour la vache et la chèvre, avec une grande prudence, n'injecter d'abord que de très faibles doses de toxine iodée et ne recourir que tard à la toxine pure, seulement lorsque le sang montre déjà une certaine puissance antitoxique. Pour celles dont on veut réserver le lait, Roux recommande de commencer l'immunisation

(1) Roux et Martin, Contribution à l'étude de la diphtérie (sérumthérapie) (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 609).

(2) Nikanoroff, Essais d'immunisation des animaux par la toxine diphtérique et le sérum antidiphtérique (*Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, VI, 1897, p. 57).

(3) Bardach, Études sur la diphtérie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 40).

(4) Wernicke, Ein experimentelle Beitrag zur Kenntniss des Löfflerschen Diphteriebacillus und zur Blutserumtherapie (*Arch. für Hygiene*, XVIII, 1893, p. 192).

(5) Ehrlich et Wassermann, Ueber die Gewinnung der Diphterie-Antitoxin (*Zeitschr. für Hygiene*, 1894).

assez longtemps avant la parturition, car au moment de la mise bas la sensibilité au poison est encore augmentée.

De l'avis de Roux, le *cheval* est le plus facile à immuniser de tous les grands animaux. Comme cette question d'immunisation du cheval a un grand intérêt au point de vue de l'obtention du sérum antidiphtérique, nous croyons devoir entrer dans quelques détails.

Pour immuniser un cheval, il est préférable de recourir aux inoculations, à doses progressivement croissantes, de toxine de bonne virulence, tuant en quarante-huit heures un cobaye de 300 grammes à la dose de 1/10e de centimètre cube. Nocard (1) a réussi également en se servant de cultures vivantes, mais l'emploi de toxine filtrée est préférable.

L'injection se fait facilement sous la peau de l'encolure ou en arrière de l'épaule avec la technique habituelle. Les premières injections peuvent être faites avec de la toxine iodée ou des doses plus faibles de toxine pure. Il est des chevaux qui supportent d'emblée l'injection de 1 centimètre cube de toxine pure, sans présenter d'autres symptômes qu'une réaction fébrile passagère et un œdème local plus ou moins prononcé se dissipant en quelques jours. D'autres paraissent plus éprouvés ; aussi est-il préférable, pour tâter en quelque sorte la susceptibilité du sujet, de commencer par une injection de 1 ou 2 centimètres cubes de toxine iodée avant de recourir à la toxine pure. Roux signale la sensibilité particulière d'un cheval qui avait été inoculé, un an auparavant, avec du Pneumocoque. Le tableau suivant, emprunté à Roux, donnera d'excellentes indications sur la marche à suivre pour obtenir un degré suffisant d'immunisation chez le cheval.

Expérience d'immunisation d'un cheval (Roux). — Cheval de sept ans, du poids de 400 kilogrammes environ ; la toxine tue un cobaye de 500 grammes en quarante-huit heures à la dose de 1/10e de centimètre cube.

1er jour	Injection de	1/4cc	Toxine iodée au	1/10e	Pas de réaction ni locale ni générale.
2e —	—	1/2cc	—	1/10e	Pas de réaction.
4e, 6e, 8e jour	—	1/2cc	—	1/10e	—
13e, 14e —	—	1cc	—	1/10e	—
17e jour	—	1/4cc	Toxine pure		Léger œdème, sans fièvre.
22e —	—	1cc	—		— —
23e —	—	2cc	—		— —
25e —	—	3cc	—		— —
28e —	—	5cc	—		— —
30e, 32e, 36e jour	—	5cc	—		— —
39e, 41e jour	—	10cc	—		— —
43e, 46e, 48e, 50e jour	—	30cc	—		Œdème assez prononcé, dissipé en 24 heures.
53e jour	—	60cc	—		—
57e, 63e, 65e, 67e jour	—	60cc	—		—
72e jour	—	90cc	—		—
80e —	—	250cc	—		—

En deux mois et vingt jours, ce cheval a reçu 800 centimètres cubes de toxine sans avoir présenté autre chose qu'un œdème local passager et une augmentation de température de 1 degré environ le soir des jours où

(1) Roux, Sérumthérapie de la diphtérie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1894, appendice, p. 632).

l'injection de toxine a été copieuse. L'inoculation d'une dose aussi massive de toxine que la dernière, supportée sans autre phénomène qu'une réaction locale promptement dissipée, montre bien à quel degré d'immunité était arrivé un tel animal. En général, l'immunité peut être considérée comme solidement établie quand un cheval supporte une injection de 60 à 70 centimètres cubes d'une toxine tuant le cobaye en moins de quarante-huit heures à la dose de 1/10e de centimètre cube, sans présenter autre chose qu'un peu de température et un œdème localisé. En pratique, il est possible d'employer au début des doses plus fortes que celles citées dans le tableau précédent et surtout d'user plus tôt de la toxine pure. Le tableau suivant résume la marche de l'immunisation de deux chevaux, conduite à l'Institut sérothérapique de Nancy, suivant les données de Roux :

1er jour	Inj. de 2cc de toxine add. de 1cc solut. de Gram.			Un peu d'œdème, pas de fièvre.
6e —	Injection de	1cc	de toxine pure.	Œdème peu prononcé, pas de fièvre.
12e —	—	1cc	—	— — —
18e —	—	1cc,5	—	Œdème assez prononcé ; 39° le soir.
25e —	—	3cc	—	Un peu d'œdème, pas de fièvre.
29e —	—	3cc	—	—
31e —	—	3cc	—	—
33e —	—	5cc	—	—
35e —	—	5cc	—	—
37e —	—	6cc	—	Presque pas d'œdème.
39e —	—	10cc	—	Peu d'œdème.
41e —	—	10cc	—	—
43e —	—	15cc	—	—
47e —	—	15cc	—	Presque pas d'œdème.
48e —	—	15cc	—	—
50e —	—	20cc	—	—
52e —	—	20cc	—	—
54e —	—	20cc	—	—
57e —	—	20cc	—	—
59e —	—	20cc	—	—
61e —	—	30cc	—	—
64e —	—	30cc	—	—
66e —	—	30cc	—	—
68e —	—	30cc	—	—
70e —	—	30cc	—	—
72e —	—	50cc	—	—
75e —	—	50cc		—
77e —	—	70cc		—

Arrivés à ce degré d'immunisation, les chevaux supportent impunément des doses beaucoup plus fortes de toxine. A ce moment, leur sérum est suffisamment actif pour être utilisé.

Il est, du reste, possible, suivant les cas, de modifier la manière de faire. Ce qui doit servir de guide, faire augmenter ou diminuer les doses et les intervalles des injections, c'est l'état de l'animal et les réactions qu'il présente. A ce point de vue, les chevaux réagissent très différemment ; il sera facile, pour cette raison, d'aller plus vite dans un cas que dans l'autre.

D'après une expérience de Roux, l'*âne* supporte bien moins que le cheval le poison diphtérique ; un ânon de six mois a succombé à l'injection d'une dose de 1 centimètre cube.

Brieger et Boer disent avoir réussi à immuniser une chèvre et un mouton à l'aide de toxine pure, extraite par leur procédé décrit page 596.

Sérothérapie de la diphtérie. — On a vu précédemment (p. 366) que Héricourt et Richet avaient réussi à faire résister à l'infection du *Micrococcus pyosepticus* des lapins auxquels ils avaient injecté dans le péritoine du sérum de chiens immunisés à l'égard de ce même microbe. C'est certainement là le début de la sérothérapie. Cette méthode a surtout été mise à l'ordre du jour après les recherches de Behring et Kitasato (1) sur le tétanos et la diphtérie ; elles prouvent que le sérum d'animaux immunisés, mélangé au poison microbien, neutralise en quelque sorte son action et ceci non seulement *in vitro*, mais dans l'organisme où l'on introduit le sérum avant l'intoxication ; que ce sérum agit aussi bien contre l'infection par le microbe vivant que contre l'intoxication par son poison seul ; qu'il possède enfin la propriété de guérir un animal déjà en puissance d'infection. Behring explique cette action par la production dans le sang des animaux immunisés, sous l'influence des produits microbiens, d'une *antitoxine* pouvant s'opposer aux effets de la toxine provenant du même microbe. Behring, Boer, Ehrlich, Wassermann, en 1892 et 1893, annoncent les premiers résultats favorables observés sur des enfants atteints de diphtérie. La communication de Roux au Congrès de Budapest, en 1894, apporta les preuves les plus convaincantes, confirmant les résultats de Behring et de ses collaborateurs. La sérothérapie antidiphtérique était érigée en méthode courante. On trouvera tous les détails utiles dans le mémoire de Roux et Martin (2) déjà cité précédemment, et divers ouvrages parus depuis cette époque, entre autres le *Manuel* de Funck (3).

Le *sérum antidiphtérique* peut être fourni par divers animaux qui sont amenés à un état d'immunisation suffisant.

Il est difficile d'utiliser les animaux de petite taille, lapins et cobayes, lorsqu'on désire une quantité tant soit peu considérable de sérum ; ils n'en peuvent fournir qu'un volume très restreint, même en sacrifiant l'animal.

Le chien peut déjà en donner plus. Un chien supporte facilement une saignée de 300 à 400 centimètres cubes suivant sa grosseur, et cela à des périodes assez rapprochées; saignant à blanc, par la carotide, on retire 2 litres et plus de sang.

L'immunisation de la chèvre et de la vache présente un intérêt tout spécial, à cause du passage dans le lait du principe antitoxique (4). Nous avons vu que cette immunisation était délicate à conduire et quelles précautions spéciales il fallait prendre. Nous reviendrons plus loin sur cette question du lait des animaux immunisés.

Le cheval présente des avantages tout particuliers à ce point de vue; aussi est-il plus généralement choisi. Nous avons vu d'abord qu'il était facile de l'amener à un haut degré d'immunisation ; de plus, il est possible d'en retirer périodiquement une notable quantité de sang ; un cheval

(1) Behring et Kitasato, Ueber das Zustandekommen der Diphterie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1890).

(2) Roux et L. Martin, Contribution à l'étude de la diphtérie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 609), et Roux, Martin et Chaillou, Trois cents cas de diphtérie traités par le sérum antidiphtérique (*Ibid.*, p. 640).

(3) Funck, Manuel de sérothérapie antidiphtérique. Paris. Carré, 1895.

(4) Ehrlich et Wassermann, Ueber die Gewinnung der Diphterie-Antitoxin (*Zeitschr. für Hygiene*, 1894, et Wassermann, Ueber Concentrirung der Diphterie-Antitoxin aus der Milch immunisierte Thiere (*Ibid.*, XVIII).

de poids moyen, 4 à 500 kilogrammes, peut aisément donner tous les mois, et même plus souvent, au moins 4 litres de sang et facilement 6 litres ; l'opération est des plus simples, elle se fait aseptiquement en suivant les indications données page 178. Enfin les expériences de Roux et Vaillard (1) sur le sérum antitétanique démontrent que le sérum de cheval est de tous le mieux supporté par l'homme.

On ne doit naturellement immuniser dans ce but que des chevaux parfaitement sains, le sérum d'animaux malades pouvant transporter des germes infectieux ou renfermer des principes nuisibles. Il est surtout important de s'assurer qu'ils ne réagissent pas à la malléine et qu'ils ne sont par conséquent pas en puissance de morve. La tuberculose du cheval est rare et se reconnaît du reste par des signes cliniques si nets que Nocard lui-même déclare inutile l'épreuve à la tuberculine.

Le sérum de chevaux traités comme il a été indiqué dans les tableaux pages 604 et 605, recueilli quelque temps après la dernière injection, se montre nettement antitoxique. Son maximum d'activité n'est atteint que dix ou onze jours après la dernière injection, comme le montrent bien les recherches de Salomonsen et Madsen (2) ; la saignée faite plus tôt peut ne donner qu'un sérum faible ou même presque dépourvu d'activité, car l'expérience prouve qu'après une forte injection de toxine le pouvoir antitoxique du sang diminue pendant quelques jours, puis croît de plus en plus jusqu'à atteindre un maximum qu'il garde pendant quelques jours, et s'abaisse ensuite graduellement pour disparaître tout à fait si l'on n'intervient pas pour le maintenir. Le meilleur moment pour pratiquer la saignée paraît être dix ou onze jours après une dernière injection de forte dose.

Wernicke (3) est parvenu à immuniser des chiens par une méthode toute spéciale, celle de l'alimentation avec de la viande d'animaux diphtériques. D'après Roux, cependant, l'introduction de toxine dans l'intestin ne doit déterminer aucun effet toxique ; il semblerait alors que l'immunité dût être indépendante de la toxicité vraie. Un premier chien, jeune, pesant 5 kilogrammes et demi, fut nourri exclusivement avec de la viande d'une brebis immunisée contre la diphtérie ; un second adulte, pesant 35 kilogrammes, avec celle d'une brebis morte de diphtérie chronique. Le premier consomma en six jours une quantité de viande égale à son propre poids ; le second ne reçut que le tiers de son poids. Après trois jours, le premier chien et un chien témoin reçurent sous la peau un demi-centimètre cube d'une culture virulente. Le témoin mourut après quatre jours ; le premier chien ne présenta qu'un peu d'œdème au point d'inoculation, son état général resta normal ; on retrouva cependant, plus de quinze jours après l'inoculation, des Bacilles diphtériques à l'endroit de l'injection. Le second chien succomba à une inoculation de 1 centimètre cube de culture. L'immunité obtenue par la nutrition à la viande de brebis immunisée serait donc plus stable que celle que l'on obtient avec la viande de brebis morte de diphtérie chronique ; de plus, la puissance de cette immunité serait en rapport avec la quantité de viande ingérée.

(1) Roux et Vaillard, Contribution à l'étude du tétanos (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 64).

(2) Salomonsen et Madsen, Recherches sur la marche de l'immunisation active contre la diphtérie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 315 ; XIII, 1899, p. 262).

(3) Wernicke, *Op. cit.*, p. 603.

En renforçant l'immunité ainsi obtenue à l'aide d'injections à doses graduellement croissantes de toxine ou de cultures virulentes, Wernicke est parvenu à obtenir un sérum dont la force curative est si grande qu'un centimètre cube de ce sérum suffisait à immuniser plusieurs centaines de kilogrammes d'animal. Si l'on usait de ce sérum pour l'homme, il suffirait donc de quelques centigrammes pour immuniser un adulte et quelques milligrammes pour un enfant. Les quelques résultats cités sont encore trop peu nombreux pour permettre d'asseoir une opinion.

Essai de la valeur antitoxique du sérum.

Il est avant tout nécessaire de se rendre un compte exact de la puissance antitoxique d'un sérum pour pouvoir être assuré de son activité thérapeutique et évaluer la quantité à employer dans un cas donné. Plusieurs méthodes peuvent conduire au résultat cherché ; deux surtout sont employées, celle de Behring-Ehrlich et celle de Roux (1).

Méthode d'essai de Behring-Ehrlich. — Le sérum est mélangé en proportions graduellement croissantes à une dose de toxine représentant dix fois la dose mortelle pour un cobaye adulte de poids moyen, 400 grammes environ. Avec une toxine telle que celle que nous considérons comme normale, qui tue un tel cobaye en quarante-huit heures à la dose de 1/10[e] de centimètre cube, on prend 1 centimètre cube de cette toxine en plusieurs éprouvettes et on y ajoute des doses variables, de moins en moins considérables, de sérum, par exemple un millième, neuf dix-millièmes, huit dix-millièmes, sept dix-millièmes, cinq dix-millièmes de centimètre cube, et ainsi de suite, de sérum que l'on a au préalable dilué dans une solution de chlorure de sodium à 7 p. 1000, soigneusement stérilisée d'avance pour pouvoir évaluer plus aisément la proportion à ajouter. Le mélange est ramené à 3 centimètres cubes par addition de la solution physiologique et injecté sous la peau des cobayes que l'on doit prendre d'un poids aussi égal que possible. Les cobayes qui ont reçu des mélanges trop peu riches en sérum, où la toxine n'a été neutralisée qu'en partie, périront après un intervalle de temps variable suivant la quantité de toxine neutralisée, ou présenteront seulement une réaction locale plus ou moins intense ; ceux qui auront été inoculés avec un mélange où la toxine est entièrement neutralisée n'offriront aucun symptôme ni général ni local. La quantité de sérum de ce dernier mélange pourra servir de base à l'évaluation de son activité. Ainsi, si dix centièmes de centimètre cube, ou 10 centigrammes, de sérum neutralisent exactement 1 centimètre cube de toxine, dix fois la dose mortelle pour un cobaye, on aura, comme l'admet Behring, un *sérum normal* renfermant une *unité antitoxique* dans 1 centimètre cube ; 10 centimètres cubes de ce sérum représenteront dix unités antitoxiques. Si un sérum possède une activité telle que 1 milligramme neutralise 1 centimètre cube de toxine, ce sérum sera cent fois plus actif que le sérum dit normal; il contiendra 1000 unités antitoxiques Behring dans 10 centimètres cubes. Ehrlich et Wassermann insistent sur le point qu'il faut, pour évaluer exactement un sérum, se baser non

(1) Madsen, Ueber Messung der Stärke des Antidiphterischen Serums (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIV, 1897, p. 425).

pas sur la dose qui préserve le cobaye de la mort, mais sur celle qui neutralise absolument la toxine et empêche la production de toute réaction locale, de tout œdème au point d'inoculation (1).

Méthode d'essai de Roux. — Pour évaluer l'activité d'un sérum, Roux prend comme base la quantité, par rapport au poids d'un cobaye, qui en est nécessaire pour préserver tout à fait de la mort ce cobaye auquel on fait, douze heures après l'injection du sérum, une injection de un demi-centimètre cube d'une culture fraîche de diphtérie bien virulente. Si cette quantité est de 1/25 000e, 1/50 000e, 1/100 000e du poids du cobaye, le sérum est dit actif au vingt-cinq-millième, au cinquante-millième, au cent-millième.

Roux considère comme suffisamment actif pour être employé au traitement des malades, un sérum dont un centième de centimètre cube injecté à un cobaye de 500 grammes le protège contre une inoculation de un demi-centimètre cube de culture diphtérique bien virulente (tuant le cobaye en moins de trente-six heures à cette dose) faite douze heures après. D'après ce qui vient d'être dit plus haut, on voit qu'un tel sérum est actif au cinquante-millième.

Les chevaux dont l'immunisation a été conduite comme il a été indiqué pages 604 et 605 fournissent, lorsqu'on les saigne, dix à douze jours après la dernière injection de toxine, un sérum dont l'activité est d'ordinaire au moins égale, souvent supérieure, au cinquante-millième. En augmentant les dernières doses de toxine ou en employant des toxines plus fortes, il est possible d'obtenir des sérums d'activité plus grande, actifs au quatre-vingt-millième, au cent-millième. Il ne paraît pas utile de dépasser cette puissance. D'ailleurs, les conditions individuelles de l'animal interviennent ici, sans que l'on puisse en donner une raison bien précise; parmi plusieurs chevaux soumis à une méthode d'immunisation identique en tous points, il en est qui fournissent un sérum plus actif que celui fourni par d'autres. Il est possible de mélanger ces divers sérums et d'obtenir un produit d'activité moyenne.

Nous savons que chez un animal immunisé, le degré d'immunisation qui a atteint son maximum à un moment donné, ou la puissance antitoxique de son sang, ce qui revient au même, ne reste pas longtemps stable, n'est pas une qualité acquise définitivement, mais diminue progressivement à mesure qu'on s'éloigne du moment de la dernière injection de toxine, et peut même disparaître complètement après un certain temps. Si l'on veut que l'animal en question soit une source continue de sérum antitoxique, il est nécessaire d'entretenir son immunisation. On y parvient facilement en lui injectant régulièrement, dans l'intervalle de deux saignées, une dose suffisante de toxine.

On peut, après avoir laissé reposer plus ou moins l'animal, lui faire une série d'injections sous-cutanées de toxine à doses modérées; ou, pendant que la canule qui a servi à la saignée est encore en place, lui faire une injection massive, 300 à 500 centimètres cubes de toxine. Les expériences de Roux et Vaillard sur l'immunisation contre le tétanos

(1) Ehrlich, Die Werthbemessung des Diphterieheilserums und deren theoretischen Grundlage. Iéna, 1897.

ont démontré qu'on obtient toujours un sérum plus actif en multipliant les injections de doses relativement petites de toxine; le premier procédé est donc à préférer. On peut recommencer le traitement d'immunisation six à huit jours après une saignée et le conduire de la façon suivante :

8e jour après la saignée : Injection de				50cc	de toxine.
10e	—	—	—	100cc	—
12e	—	—	—	100cc	—
14e	—	—	—	100cc	—
15e	—	—	—	100cc	—
16e	—	—	—	100cc	—
17e	—	—	—	100cc	—
18e	—	—	—	100cc	—
19e	—	—	—	100cc	—
20e	—	—	—	100cc	—

La saignée suivante est faite dix à douze jours après la dernière injection.

On peut répéter la saignée un grand nombre de fois sur un même cheval, tantôt du même côté, tantôt en alternant. Les chevaux en traitement actuellement dans les divers Instituts paraissent pouvoir très bien supporter le traitement et servir ainsi pendant des années à l'obtention du sérum. On a déjà remarqué cependant que l'emploi de toxines très actives, comme celles obtenues par exaltation de la virulence d'un Bacille, toxines qui tuent le cobaye à doses dix ou vingt fois moindres que la toxine normale de Roux, détermine parfois des symptômes de dénutrition et de cachexie chez certains chevaux.

La façon dont les chevaux supportent les injections de toxine diphtérique est des plus variables. Il en est qui présentent des réactions notables avec de faibles doses de toxine, 1 centimètre cube ou moins; leur température s'élève au-dessus de 40°, l'œdème peut être énorme. D'autres ne présentent pour ainsi dire aucune réaction à des doses plus fortes. Certains fournissent, avant toute inoculation, un sérum déjà légèrement antitoxique pour le cobaye; on pourra les choisir de préférence, ils supportent mieux les injections de toxine et peuvent arriver plus vite aux hautes doses. Si l'on vient, dans le cours des opérations, à changer le microbe producteur de toxine, on pourra observer des changements dans les symptômes habituels. L'observation suivie des sujets guidera l'opérateur dans les modifications à apporter au procédé.

Le sérum recueilli aseptiquement par la méthode Pasteur peut se conserver indéfiniment sans présenter d'autre modification qu'une légère précipitation de fibrine qui se produit à la longue sous forme de flocons, de très fins grumeaux ou même de fins cristaux. Lorsqu'on ne recueille pas de sang d'une façon absolument aseptique, il faut laisser la coagulation et la séparation du sérum se faire à 0° et ajouter au sérum soutiré des substances antiseptiques, de l'acide phénique par exemple, en proportion de 0,5 p. 100 comme on le fait en Allemagne, ou le filtrer sur bougie Chamberland; cette dernière méthode lui enlève toujours de son activité (1), la bougie de porcelaine retenant de la substance antitoxique.

(1) Dzierzgowski, Sur la filtration des substances albuminoïdes à propriétés actives (*Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, IV, 1895, p. 225).

Il est de beaucoup préférable de recourir à la méthode de Pasteur. Elle a été décrite précédemment avec détails (p. 178 et suiv.).

Le sérum soutiré aseptiquement d'une façon ou d'une autre, et ici la simple pipette Chamberland est d'un excellent usage, est réparti dans des flacons de conserve ou dans les tubes qui serviront directement au praticien. Les flacons de conserve peuvent être des ballons stérilisés dont le col est étiré après remplissage ou qui sont simplement bouchés avec un bon bouchon de caoutchouc stérilisé à l'autoclave dans une enveloppe de papier brouillard. Les tubes à utiliser ont, suivant le cas, une contenance de 10 à 20 centimètres cubes et sont bouchés avec un bouchon de caoutchouc stérilisé qu'on recouvre d'une couche de paraffine fondue ou d'un capuchon de caoutchouc stérilisé.

La préparation et la vente du sérum antidiphtérique sont réglementées, en France, par la loi du 25 avril 1895.

Dans des flacons bien remplis, conservés à l'obscurité, le sérum garde longtemps sa puissance antitoxique. De nombreuses expériences démontrent qu'il peut rester un an et plus sans s'affaiblir ou en ne s'affaiblissant que d'une manière insignifiante.

Certains agents physiques ou chimiques ont sur son activité une influence manifeste (1). La lumière du jour a une action affaiblissante manifeste, quoique lente; après trois ou quatre mois, le pouvoir antitoxique est très diminué; ce sont surtout les rayons bleus qui agissent, les rayons jaunes et rouges sont très peu actifs. Des températures moyennes, maintenues pendant peu de temps, sont sans effet appréciable sur l'activité du sérum; on peut le maintenir pendant plusieurs jours à l'étuve à 38° sans le voir s'affaiblir; c'est même là un excellent moyen pour s'assurer de sa pureté microbienne. En chauffant pendant vingt minutes à 59°-59°,5, l'affaiblissement est réel mais très minime. Le sérum desséché à basse température, puis à 100° dans un courant d'air sec, peut supporter un chauffage d'une demi-heure à 110° ou d'un quart d'heure à 140° sans perdre ses propriétés (2). Une température de 37° a une action affaiblissante déjà bien marquée après un mois; le froid modéré conserve bien. L'oxygène est un atténuateur énergique; l'air agit dans le même sens, mais plus lentement. L'azote et l'acide carbonique donnent les mêmes résultats que l'air.

L'addition de petites quantités d'antiseptiques ne paraît pas nuire. La filtration sur bougie Chamberland retient souvent beaucoup d'antitoxine.

Desséché dans le vide, avec soin, le sérum retrouve ses propriétés préventives quand on le dissout à nouveau dans huit ou dix fois son poids d'eau. Cette particularité peut servir pour des transports lointains. Cette solution donne au point d'inoculation une petite tuméfaction passagère que ne produit pas le sérum naturel.

La substance antitoxique, cette *antitoxine diphtérique* que contient le sérum, est encore bien peu connue. Guérin et Macé (3) l'ont obtenue

(1) Muller, Ueber die Resistenz des Diphtericheilserum gegenüber verschiedenen physikalischen and Chemischen Einflüssen (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 251 et 316).

(2) Camus, Résistance aux températures élevées des vaccins desséchés (sérum antivenimeux et sérum antidiphtérique) (*Soc. de Biol.*, 26 février 1898).

(3) Guérin et Macé. Sur l'antitoxine diphtérique (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 5 août 1895).

en traitant le sérum par douze fois son volume d'alcool à 95° ; le coagulum albumineux est lavé sur filtre à l'alcool, desséché dans le vide au-dessus d'acide sulfurique, réduit en poudre et traité par l'eau distillée. La solution obtenue montre un pouvoir antitoxique très marqué. La substance active paraît être de la nature des diastases. Ce qui confirme encore cette opinion, c'est l'action très marquée de la température ; soumise à une chaleur de 60° à 65°, elle perd rapidement son activité.

D'après Belfanti et Carbone (1), l'antitoxine est intimement liée à l'existence de la globuline du sérum ; elle en serait peut-être même une modification.

Ehrlich et Wassermann (2), ayant observé la présence d'antitoxine dans le lait des animaux immunisés, proposèrent de se servir de ce liquide comme source de ce produit. On comprend l'intérêt et l'importance que pourrait présenter cette méthode, s'il devenait facile d'extraire du lait l'antitoxine pure ou suffisamment purifiée. En outre, il est beaucoup plus facile avec le lait de suivre chez un animal, pour ainsi dire jour par jour, la formation de la substance antitoxique et les variations qu'elle peut présenter.

La quantité d'antitoxine que peut contenir le lait d'une chèvre ou d'une vache immunisées varie naturellement avec le degré d'immunisation auquel on est parvenu. On l'apprécie facilement en évaluant, comme pour le sérum, la quantité de toxine active qu'un volume donné de lait peut neutraliser. Au début de l'immunisation, 5 centimètres cubes de lait ne suffisent pas pour neutraliser 1 centimètre cube de toxine ; plus tard, il ne faut plus pour cette dose de toxine qu'un dixième de centimètre cube environ. Le lait est alors actif au cinquantième. Le rapport entre la valeur antitoxique du sang et du lait d'un même animal bien immunisé serait comme 1 est à 20, d'après les auteurs cités. Une chèvre produisant en moyenne 30 litres de lait par mois peut ainsi fournir une quantité d'antitoxine égale à celle contenue dans un litre et demi de sang, dose à laquelle on ne pourrait pas arriver sans danger. Une vache donnant journellement une dizaine de litres de lait en fournirait une quantité beaucoup plus grande.

L'important est d'arriver à extraire cette antitoxine sinon pure, du moins sous une forme utilisable. Wassermann (3) indique le procédé suivant : le lait est recueilli, avec toutes les précautions antiseptiques, dans des vases stérilisés ; on y ajoute 20 centimètres cubes de solution normale de chlorure de sodium par litre et une quantité de présure suffisante pour obtenir une coagulation complète et rapide. On décante le liquide clair qui s'est séparé du coagulum et on l'agite quelque temps, dans de grands vases à précipités, avec du chloroforme pour le débarrasser de la graisse. Par le repos, le chloroforme se réunit au fond du vase. En décantant, on obtient un liquide clair, dépourvu de Bactéries, qui peut se conserver pendant des mois sans perdre son activité, ou servir aux préparations ultérieures.

(1) Belfanti et Carbone, Contributo albla conescenza dell' antitoxina diphterica (*Arch. per le Scienza med.*, XXIX, 1898).

(2) Ehrlich et Wassermann, Ueber die Gewinnung der Diphteric-Antitoxine aus Blutserum und Milch immunisierte Thiere (*Zeitschr. für Hygiene*, XVIII, 1894, p. 239).

(3) Wassermann, Ueber Concentrirung der Diphterie-Antitoxine aus der Milch immunisierte Thiere (*Zeitschr. für Hygiene*, XVIII, 1894, p. 235).

D'après l'activité antitoxique de ce dernier liquide, on le traite par le sulfate d'ammoniaque en proportion de 30 à 33 p. 100. Il se produit un précipité qui est recueilli sur filtre et rapidement détaché sur une spatule de platine, placé sur une plaque de porcelaine dégourdie, desséché dans le vide, exprimé pour le débarrasser du sulfate d'ammoniaque en excès et redissous ensuite dans une quantité d'eau dix fois moindre que la quantité du liquide obtenu après coagulation du lait. Il reste dans la solution une faible quantité de sulfate d'ammoniaque qui ne présente aucun inconvénient pour son emploi chez l'enfant.

Pour employer avec avantage ce procédé, on a intérêt à pousser l'immunisation de l'animal à un très haut degré ; la proportion d'antitoxine contenue dans le lait est plus grande.

L'antitoxine diphtérique, ou le sérum qui en contient, donne très rapidement, sur-le-champ pour ainsi dire, l'immunité aux animaux. Cette immunité, toutefois, ne dure pas; elle diminue vite pour disparaître au bout de quelques jours ou quelques semaines, selon la proportion d'antitoxine introduite. Elle diffère notablement sous ce rapport de l'immunité obtenue par injections progressives de toxine, qui est beaucoup plus durable.

Quelle peut être l'action de l'antitoxine sur la toxine? On a d'abord songé à une destruction complète; c'est ce que semble démontrer l'innocuité absolue pour le cobaye d'un mélange de neuf parties de toxine et d'une partie de sérum. Ce même mélange cependant cause un œdème notable chez le lapin en inoculation sous-cutanée et peut même le tuer en inoculation intraveineuse ; il tue également en inoculation sous-cutanée des cobayes impressionnés auparavant par des produits microbiens, toxines du *Micrococcus prodigiosus*, produits solubles du choléra, tout en étant revenus en parfait état de santé (Roux). C'est ce qui semble bien prouver que l'effet en question résulte d'une action de l'antitoxine sur les cellules de l'organisme, action stimulante qui exciterait les procédés naturels de défense, et non pas d'action sur la substance toxique. L'antitoxine paraît bien nettement être un produit de l'activité de certains éléments de l'organisme, activité qui se manifeste au mieux sous l'influence de l'excitation déterminée par la toxine, mais qui peut encore se manifester, quoique à un degré moindre, en dehors d'elle (1).

Dans l'application du sérum antitoxique au traitement de la diphtérie humaine, la question de la dose à injecter a une grande importance. Elle doit varier suivant la puissance du sérum, l'âge du sujet, la gravité et la période de la maladie (2).

Il existe trois numéros de sérum Behring : le n° I contient 600 unités Behring (Voy. p. 608) dans 10 centimètres cubes; le n° II, 1 000 unités; le n° III, 1 500 unités.

Le sérum Roux a une activité moyenne de 1/70 000e.

Lorsqu'il s'agit de jeunes enfants et que le traitement est appliqué au

(1) Ehrlich, Mode de production et mécanisme d'action des antitoxines (*Sem. méd.*, 1899, n° 52, p. 411).

(2) Haushalter, De l'application des sérums au traitement de la diphtérie et du tétanos (*Congrès de méd. de Nancy*, 1896).

début, on peut commencer par une injection de 10 centimètres cubes de sérum Roux ou de sérum Behring n° I ; au-dessous d'un an, cette dose peut être réduite à 5 centimètres cubes.

Dans les cas graves, il y a avantage à donner d'emblée 20 centimètres cubes de sérum Roux ou 10 centimètres cubes de sérum Behring n° III.

Chez l'adulte, la dose initiale doit être au moins de 20 centimètres cubes et mieux 30 centimètres cubes.

L'intervention a d'autant plus de chances de succès qu'elle est plus précoce. Le tableau suivant, dû à Samguine (de Moscou), le prouve avec toute évidence :

	MORTALITÉ.
Injection faite le 2e jour	10,5 p. 100
— — 3e —	13,3 —
— — 4e —	16,8 —
— — 5e —	33 à 40 p. 100

L'état du malade, les symptômes que l'on peut constater, surtout l'étendue des fausses membranes, l'intensité des phénomènes laryngés, serviront de base pour les injections ultérieures. Suivant ce qui se passe, on peut faire une seconde injection de douze à vingt-quatre heures, parfois même six heures, après la première, et continuer plusieurs fois s'il le faut.

D'ordinaire le sérum est très bien supporté. Il paraît cependant exister des susceptibilités particulières. Il n'est pas prouvé toutefois que certains accidents graves observés, l'anurie en particulier, doivent être mis sur le compte du sérum plutôt que sur celui de l'intoxication diphtérique. A la suite du traitement sérothérapique, on peut observer de l'érythème, localisé ou généralisé, de l'urticaire, parfois des arthropathies, qui paraissent bien être sous la dépendance du sérum. D'après Spronck (1), le chauffage préalable du sérum à 59°-59°5, pendant vingt minutes, est très favorable contre les accidents post-sérothérapiques, surtout les éruptions cutanées, souvent si désagréables.

Pour Nicolle (2), le sérum antidiphtérique n'a pas d'action nuisible sur le rein sain; tout au plus détermine-t-il une très légère albuminurie passagère. Les symptômes graves de néphrite sont dus au poison diphtérique que forme l'organisme. Cependant, il semble bien qu'on doive admettre que la très légère toxicité d'un sérum, même normal, puisse agir défavorablement sur le rein et être réellement la goutte d'eau qui fait déborder le vase. Spronck (3) admet aussi l'action favorable du sérum dans l'albuminurie diphtérique.

Après l'injection de sérum, on peut observer, au bout de quelques heures, une amélioration notable de l'état général, surtout saisissable dans les cas graves. L'action produite sur les fausses membranes est particulièrement remarquable. Dix à douze heures après l'injection, les fausses membranes deviennent plus blanches, perdent de leur consis-

(1) Spronck, Influence favorable du chauffage sur les accidents post-sérothérapiques (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 696).

(2) Nicolle, Action du sérum antidiphtérique sur les reins sains ou malades (*Revue de méd.*, janvier 1898).

(3) Spronck, Étude expérimentale de l'action du sérum antidiphtérique dans l'albuminurie diphtérique préexistante (*Sem. méd.*, 1897, n° 55, p. 434).

tance et de leur épaisseur, se décollent d'elles-mêmes de la muqueuse, peuvent se dissocier; à leur place il ne se reproduit qu'un mince enduit disparaissant bientôt à son tour. Souvent, de trente-six à quarante-huit heures, toute trace de fausse membrane a disparu. Dans les formes graves, le processus est plus tenace, les fausses membranes peuvent se reproduire pendant quatre ou cinq jours.

Le résultat indéniable du traitement sérothérapique de la diphtérie est un abaissement notable de la mortalité. Les statistiques démontrent que de 45, 50 et même 60 p. 100, elle peut tomber à 10 ou 15 p. 100. Le moment de l'injection, la quantité de sérum injectée ont une grande importance pour le résultat (1).

Le sérum antidiphtérique n'agit que sur le Bacille de Loeffler et sur sa toxine; aussi les associations microbiennes qui peuvent se rencontrer dans la diphtérie jouent-elles un grand rôle dans l'issue du traitement, ce qui montre de suite l'importance d'un diagnostic bactériologique exact.

On a vu précédemment que le sérum antidiphtérique présentait un pouvoir immunisant manifeste et qu'en l'injectant à la dose suffisante aux animaux d'expérience, cobayes et lapins par exemple, il était possible de leur faire supporter, sans autres symptômes qu'une petite lésion locale, l'injection d'une dose sûrement mortelle de culture virulente de diphtérie. Ce qui démontre qu'il jouit d'un pouvoir préventif certain à l'égard de l'affection. Mais il faut se souvenir que l'immunité ainsi produite n'est que de courte durée.

Les applications faites chez l'homme dans un but *préventif* semblent en effet confirmer en tous points les résultats expérimentaux. Pour ne citer que les principales séries, Roux n'a pas vu se produire un seul cas de diphtérie chez 128 personnes en contact permanent avec des diphtériques et injectés préventivement; Peck a obtenu le même résultat à New-York chez 500 enfants inoculés préventivement pendant une épidémie de diphtérie. Behring et Ehrlich n'ont observé qu'un petit nombre de cas de diphtérie, 10 sur 10000 inoculés préventivement; chez ceux qui prirent la maladie, l'évolution en fut bénigne; ils attribuent la production de ces cas à l'emploi d'une quantité trop minime de sérum.

Behring et Erhlich avaient au début indiqué comme dose préventive suffisante le dixième de la dose thérapeutique, 60 unités; actuellement, Behring (2) a élevé la dose à 150 unités, de 1 centimètre cube à 1 centimètre cube et demi de son sérum fort. Roux donne comme dose préventive moyenne 5 centimètres cubes de son sérum.

La durée de l'action immunisante suffisante ne paraît pas très constante; elle semble être de trois à dix semaines. Il est du reste possible de renouveler l'inoculation préventive. Elle serait certainement à conseiller lorsqu'il y a impossibilité absolue d'éloigner des enfants d'un

(1) Bayeux, La diphtérie avant et depuis l'année 1894, avec les résultats statistiques de la sérumthérapie sur deux cent trente mille cas. Thèse de Paris, 1899.

(2) Behring, Zur Diphterie-Immuniesierungs Frage (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1894, n° 46).

foyer de diphtérie ou d'isoler un malade, ou en cas d'épidémie grave et assez étendue (1).

Smirnow (2), dans plusieurs mémoires, dit avoir obtenu, par électrolyse de toxine diphtérique active, une production d'antitoxine. Le meilleur résultat s'obtient en employant un courant faible maintenu pendant longtemps, 80 milliampères pendant seize à dix-huit heures; les propriétés curatives diminuent en prolongeant l'action. D'après lui, cette antitoxine, obtenue par électrolyse, n'est douée que d'un pouvoir neutralisant très faible vis-à-vis de la toxine; malgré cela, elle ne céderait en rien, comme effet thérapeutique, au sérum antidiphtérique.

Marmier (3), qui a repris les expériences de Smirnow, n'a observé dans le produit aucune action immunisante ou curative; il a vu la toxine ainsi traitée perdre tout à fait son activité et se transformer en une véritable solution d'hypochlorites formés sans doute par l'action de l'électrolyse sur les chlorures du milieu; ce sont peut-être ces derniers sels qui auraient un certain effet curateur, comme le démontrent des expériences de L. Martin. Il dit également n'avoir obtenu aucun résultat en usant des courants alternatifs à haute fréquence.

Enfin, on doit reconnaître, d'après des expériences d'Abel, de Wassermann et de Calmette (4), que le sérum de beaucoup d'hommes sains, adultes, jouit d'un certain pouvoir immunisant pour les cobayes, vis-à-vis du Bacille de Loeffler. Ces individus avaient-ils eu la diphtérie, et la propriété de leur sérum n'était-elle que la continuation d'un état antérieur, ou était-ce une propriété naturelle, non acquise? C'est ce que des recherches plus étendues pourront seules démontrer. Le fait qui paraît acquis cependant est la constatation, dans certains cas, de la puissance immunisante du sérum d'hommes sains à l'égard du virus diphtérique.

Habitat et rôle étiologique.

Le *Bacille de la diphtérie* se trouve dans les fausses membranes de la diphtérie vraie de l'homme, tantôt seul, souvent associé à d'autres microbes dont nous nous occuperons plus loin; sur les muqueuses du pharynx, du larynx, des fosses nasales dans les cas de diphtérie sans fausses membranes, à la surface de plaies contaminées. Il se rencontre peut-être dans certaines diphtéries des animaux; ces affections paraissent cependant d'ordinaire dues à d'autres microbes qui seront décrits plus loin.

Dans la diphtérie ordinaire, il peut disparaître de la bouche en même temps que les fausses membranes, y persister quelques jours ou même y rester assez longtemps à l'état virulent, plusieurs semaines ou même

(1) Weill, De la valeur préventive du sérum antidiphtérique. Thèse de Paris, 1897.

(2) Smirnow, Ueber die Behandlung der Diphterie mit Antitoxinen, die ohne Vermittelung des thierischen Organismus dar stelbar sind. (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1894, p. 683). — *Id.*, Ueber die Behandlung der Diphterie mit künstlich dargestelten Antitoxinen (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1895, p. 645 et 675). — *Id.*, Note sur la détermination du pouvoir neutralisant du sérum antidiphtérique (*Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, IV, 1895, p. 328).

(3) Marmier, Les toxines et l'électricité (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 469).

(4) Calmette, Contribution à l'étude des venins, des toxines et des sérums antitoxiques (*Ibid.*, IX, 1895, p. 225).

plusieurs mois, d'après certaines observations (1). Ce qui montre que les convalescents de diphtérie et même des individus tout à fait guéris, sains en apparence, peuvent être une source de contage.

Loeffler, Roux et Yersin ont établi que le *Bacille de la diphtérie* ne pullule pas dans les organes et ne se retrouve qu'au point d'inoculation dans la diphtérie expérimentale. Frosch (2), Kolisko et Paltauf (3), Barbier et Ulmann (4), Cocurat (5), entre autres, ne le trouvent pas seulement au niveau des lésions pseudo-membraneuses, mais encore dans le sang et dans les organes internes. Les expériences de Cuoghi Constantini (6) et de Métin (7) expliquent ces divergences et montrent que le *Bacille de Loeffler* ne pullule pas dans les organes lorsqu'il a été introduit seul dans l'organisme, dans le cas de diphtérie pure, et que, pour qu'on le retrouve dans le sang ou dans les organes, il faut, d'une part, ne faire l'autopsie que tardivement après la mort, et, d'autre part, qu'il soit associé à d'autres microbes, le *Streptocoque* et le *Staphylocoque doré* surtout. C'est dans ce cas qu'il se produit la forme d'infection qu'on peut désigner sous le nom de *septicémie diphtérique* (8).

Les recherches de Roux et Yersin, de Kober (9) démontrent la présence du *Bacille de la diphtérie* sur la muqueuse buccale d'individus sains. Chez les personnes en contact avec les diphtériques, la proportion serait de 10 à 20 p. 100 ; chez celles qui n'ont été soumises à aucun contact suspect, la proportion serait à peine de 1 p. 100.

D'après Creignou (10), ce microbe se rencontrerait, dans plus de la moitié des cas, dans les voies digestives supérieures d'animaux sains, et dans le mucus nasal des volailles dans les trois quarts des cas. De tels Bacilles ont alors une virulence très variable, ordinairement faible ou même nulle. Ces assertions demandent confirmation.

On a peu de données sur la présence de ce microbe dans le milieu extérieur. Park (11) l'aurait isolé d'une eau de toilette d'un diphtérique ; Abel (12) l'aurait trouvé sur des jouets ayant servi à un enfant malade de diphtérie ; Wright et Emerson (13) disent en avoir rencontré de bien virulents dans la poussière d'un pavillon de diphtériques, sur les cheveux

(1) Ulmann et Oppenheim, Persistance du Bacille de Loeffler dans la gorge des sujets atteints de diphtérie (*Presse méd.*, 31 août 1898). — Gregorieff, Le Bacille diphtérique (*Arch. de méd. des enfants*, août 1898).

(2) Frosch, Die Verbreitung des Diphteriebacillus im Körper des Menschen (*Zeitschr. für Hygiene*, XIII, 1893, p. 49).

(3) Kolisko et Paltauf, Zum Wesen des Croups und der Diphterie (*Wiener klin. Wochenschr.*, 1889, nº 8).

(4) Barbier et Ulmann, La diphtérie, 1899.

(5) Cocurat, De la présence du Bacille diphtérique dans les organes. Thèse de Paris, 1898.

(6) Cuoghi Constantini, *Policlinico*, 1er juin 1898.

(7) Métin, Le Bacille de la diphtérie pullule-t-il dans les organes? (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 596).

(8) Braun et Thiry, Septicémie diphtérique. Revue avec bibliographie complète (*Gaz. des hôp.*, 2, 4 et 9 mai 1899).

(9) Kober, Die Verbreitung des Diphteriebacillus auf der Mundschleimhaut gesunder Menschen (*Zeitschr. für Hygiene*, XXXI, 1899, p. 433).

(10) Creignou, Le Bacille de Loeffler chez les animaux sains. Thèse de Bordeaux, 1898.

(11) Park, *New York Med. Record*, 1892.

(12) Abel, Beitrag zur Frage von der Lebensdauer der Diphteriebacillen (*Centralbl. für Bakt.*, XIV, 1893, p. 756).

(13) Wright et Emerson, Ueber das Vorkommen des Bacillus Diphteriæ ausserhalb der Korpers (*Centralbl. für Bakt.*, XIV, 1894, p. 412).

d'une infirmière, sur les vêtements de personnes approchant des malades.

Les Bacilles que renferment les fausses membranes et les produits pathologiques peuvent en effet garder longtemps leur vitalité et une virulence plus ou moins grande, tout comme nous l'avons vu pour les Bacilles des cultures. Roux et Yersin ont obtenu des cultures typiques, après dix-huit mois, de fausses membranes desséchées et conservées à l'obscurité. Nous avons vu qu'en tubes clos, à l'abri de l'air et de la lumière, les cultures conservaient pendant longtemps leur virulence intacte ; il doit en être de même des produits pathologiques lorsque ces conditions sont réunies. Et elles peuvent facilement l'être en réalité dans la nature; on peut, en effet, s'imaginer des linges chargés de fausses membranes ou de crachats diphtériques, enfermés et serrés dans un espace très restreint, et on obtiendra à peu près le milieu voulu. C'est là bien certainement, par les linges, chiffons, papiers, un des modes de transmission très admissibles de l'affection. On a cité des cas de diphtérie dus au contact d'objets conservés depuis deux ans.

Lorsque ces conditions changent, que les Bacilles sont exposés à l'air libre, à la dessiccation en présence d'air en abondance, à des alternatives de sécheresse ou d'humidité, à plus forte raison à l'action des rayons solaires, les résultats sont tout à fait différents ; la vitalité et la virulence disparaissent assez vite.

L'action de la lumière est surtout remarquable; Roux et Yersin ont observé que dans une fausse membrane exposée à l'air et au soleil, les Bacilles étaient complètement tués après deux mois, alors qu'à l'abri de l'air et de la lumière on en rencontrait de vivants pendant un temps beaucoup plus long. Ledoux-Lebard (1) a remarqué que tandis que la lumière diffuse n'avait pour ainsi dire aucune action sur des Bacilles se trouvant dans l'eau ou le bouillon, elle les tuait en moins de deux jours (vingt-quatre heures d'éclairement) à l'état sec, étalés en couches minces; la lumière solaire directe agit bien plus rapidement encore. Ce sont les rayons les plus réfringents qui sont actifs ; les rayons rouges ou jaunes n'ont presque pas d'action. Reyes (2), en expérimentant sur des lambeaux de toile, du papier, de la poussière souillés, a vu la virulence disparaître complètement à la lumière le seizième jour dans un milieu humide, le sixième dans l'air sec, le troisième dans l'air desséché par l'acide sulfurique. Dans la boue humide, les Bacilles sont encore très nombreux le cent vingtième jour, aussi bien au soleil qu'à l'obscurité. Dans toutes ces conditions, la virulence s'atténue graduellement. Les recherches de Pernice (3) confirment les données précédentes. On peut donc conclure que les objets souillés par des produits virulents et exposés à des conditions de milieu ordinaires ne restent dangereux qu'un certain temps ; ce n'est que dans des conditions spéciales, où interviennent surtout le manque d'air, l'obscurité, l'humidité, que la virulence peut persister longtemps.

(1) Ledoux-Lebard, Action de la lumière sur le Bacille diphtérique (*Arch. de méd. xpér.*, 1893, p. 779).

(2) Reyes, Sulla vitalità del bacille della difterite fuori dell' organismo (*Annali d'Igiene sper.*, V, 1895, p. 501).

(3) Pernice e Scaglosi, Sulle alterazioni istologische e sulla vitalità dei bacilli di Loeffler delle pseudo-membrane difteritiche dell' uomo, studiate fuori l' organismo (*La Riforma medica*, 1895).

Montefusco (1) a observé que dans l'eau stérilisée la vitalité diminue vers le treizième jour et ne disparaît que vers le quarantième ; la virulence y est déjà atténuée au deuxième jour. Dans le lait cru, non stérilisé, le Bacille a disparu au bout de cinq ou six jours ; la virulence est déjà bien diminuée après vingt-quatre heures. Dans le lait stérilisé, on retrouve des Bacilles vivants jusqu'après quarante jours et la virulence ne baisse fort qu'après deux ou trois jours ; en alcalinisant le lait, elle peut même persister une huitaine de jours. Dans le beurre, le Bacille est mort après deux jours ; la virulence s'y atténue dès la sixième heure. Dans le vin, il disparaît au bout d'une demi-heure à deux heures selon le degré d'acidité. Sur le pain, le biscuit, les mets sucrés, il disparaît en deux ou trois jours. Sur la pellicule externe des fruits, le Bacille reste virulent longtemps ; en contact avec la pulpe, il est détruit en vingt-quatre à trente-six heures ; il en est de même avec les légumes. Les légumes et les fruits cuits le détruisent rapidement. C'est la présence d'acides qui joue dans toutes ces conditions le principal rôle.

D'après Roux, à l'état humide, le virus ne résiste pas à une température de 58°, maintenue pendant quelques minutes ; sec, il supporte sans périr une chaleur de 98° pendant plus d'une heure. Une chaleur humide de 100° suffit donc pour le détruire à coup sûr.

Une des conditions qui permettent une grande dissémination du *Bacille de la diphtérie* dans le milieu extérieur et rendent la contagion facile, est la persistance, parfois assez prolongée, du microbe, doué d'une virulence plus ou moins grande, dans la bouche des personnes ayant été atteintes de diphtérie. Il est des cas où le Bacille disparaît en même temps que les fausses membranes ou quelques jours après elles ; d'autres fois, on le retrouve longtemps virulent, des semaines, des mois même, sans qu'aucun symptôme n'en puisse faire soupçonner la présence chez l'individu qui en est porteur. Ce dernier pourra, surtout dans un milieu prédisposé, être une source de contage. Enfin, si, comme le pensent Roux et Yersin, et avec eux beaucoup d'observateurs, le Bacille que Loeffler a nommé *Bacille pseudo-diphtérique*, qui sera étudié plus loin, n'est qu'une forme atténuée à son maximum, dépourvue de toute virulence, du *Bacille diphtérique* vrai, il est rationnel de craindre qu'il puisse récupérer de la virulence sous des influences encore inconnues.

Un Bacille de virulence très atténuée peut en effet redevenir actif, bien que difficilement. Roux et Yersin ont obtenu un renforcement très marqué en associant un virus diphtérique très peu actif, ne donnant qu'un minime œdème au cobaye, à du Streptocoque très virulent. Or une telle association s'observe fréquemment ; d'autres, du reste, pourraient donner le même résultat. Le Bacille très atténué, le *Bacille pseudo-diphtérique*, peut se comporter de même et jouer alors un rôle actif dans l'étiologie de la diphtérie.

On trouve de ces Bacilles à virulence atténuée dans bien des cas bénins de diphtérie et à la fin dans des cas graves qui ont une terminaison favorable. Il semble qu'à mesure que la maladie s'amende, la virulence diminue en même temps et puisse même faire défaut au microbe que l'on trouve en dernier.

(1) Montefusco, Del modo di comportarsi del bacillo della difterite sulle sostanze alimentare (*Ann. d'Igiene sper.*, VI, 1896, p. 425).

Lésions produites par le Bacille de la diphtérie. — La diphtérie de l'homme est toujours une infection locale ; on a dit plus haut (p. 617) dans quelles conditions toutes spéciales elle pouvait devenir une maladie générale. Le microbe se développe dans un ou plusieurs points déterminés de l'organisme où il a pu s'implanter, surtout sur les muqueuses et principalement celles des voies respiratoires, parfois sur les plaies des téguments ; le poison qu'il sécrète diffuse dans le sang et produit alors les symptômes et accidents généraux ; c'est une véritable intoxication. Aussi, en général, ne trouve-t-on de microbes spécifiques qu'au point d'inoculation. Cependant, dans les cas d'infection grave et profonde surtout, on peut rencontrer des Bacilles dans le sang ou dans différents organes. Frosch (1) dit en avoir ainsi rencontré 10 fois sur 15 autopsies de diphtériques ; Kutscher (2) les a trouvés 8 fois sur 9 dans le poumon, dans des foyers de broncho-pneumonie, une fois dans le rein.

Localement, la diphtérie se manifeste par la production de la *fausse membrane*. C'est un exsudat de fibrine et de mucine produites par la muqueuse altérée, englobant de nombreux leucocytes et des microbes (3). Au début, on peut y rencontrer des éléments de l'épithélium de la muqueuse ; plus tard, ils font complètement défaut. D'abord mince, opaline, assez molle, la fausse membrane peut devenir épaisse, grisâtre, ferme, presque lardacée. Elle se détache assez facilement et laisse voir sous elle la muqueuse rouge, saignante, parfois ulcérée. Enlevée, elle se reproduit facilement, souvent en quelques heures. Elle s'étend fréquemment autour du point où elle s'est développée et envahit souvent de larges surfaces. Une coupe, faite après fixation dans le liquide de Flemming d'une fausse membrane bien développée, la montre formée de deux couches d'aspect différent ; la plus épaisse, celle qui est en contact immédiat avec la muqueuse, est formée de travées fibrineuses limitant des aréoles polygonales où sont inclus de nombreux leucocytes ; dans la couche externe, les travées de fibrine sont appliquées les unes contre les autres, serrées, formant des strates bien apparentes, enfermant surtout des noyaux et débris de noyaux. Les *Bacilles de la diphtérie* se rencontrent surtout dans la partie superficielle de cette couche externe ; ils y forment de petits amas, assez caractéristiques, où ils affectent les mêmes formes que dans les cultures. Cette couche superficielle de la fausse membrane montre fréquemment, en outre, d'autres formes microbiennes, bâtonnets divers, coccus, chaînettes, qui peuvent n'être que de simples saprophytes de la bouche sans signification ou au contraire jouer un rôle actif dans l'affection.

On peut rencontrer des fausses membranes sur toutes les muqueuses et sur toute la surface de la peau. On en trouve surtout et par ordre de fréquence dans la gorge, le larynx, les fosses nasales, la trachée et les bronches, la bouche, la trompe d'Eustache, l'oreille moyenne, la conjonctive, le prépuce, le gland, l'anus, le scrotum, la vulve, l'utérus ; elles ne se déve-

(1) Frosch, Die Verbreitung des Diphteriebacillus im Körper des Menschen (*Zeitschr. für Hygiene*, XIII, 1893, p. 49).

(2) Kutscher, Der Nachweiss der Diphteriebacillen in den Lungen mehrerer an Diphterie verstorbener Kinder durch gefärbte Schnittpräparate (*Zeitschr. für Hygiene*, XVIII).

(3) Baumgarten, Untersuchungen über die Pathogenese und Aetiologie der diphterischen Membran (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1897, nos 31 et 32).

loppent que rarement sur les muqueuses à l'abri de l'air, celles de l'œsophage, de l'estomac ou de l'intestin. Il peut s'en développer sur des plaies.

La fausse membrane n'est pas cependant pathognomonique de l'infection diphtérique. D'autres microbes peuvent en produire ayant des caractères semblables à ceux de la fausse membrane diphtérique vraie ou en différant, par une épaisseur et une extension moindres, une blancheur plus éclatante, plus d'opacité et de friabilité. Ces *pseudo-diphtéries*, se traduisant par des angines pseudo-membraneuses ou même du croup, peuvent être causées par des microbes assez divers, plusieurs *Staphylocoques*, le *Streptocoque pyogène*, le *Pneumocoque*, le *Bacille de Friedlaender*, des *Levures* même (1). On ne s'explique toutefois pas cette façon spéciale d'agir de microbes qui ne produisent jamais expérimentalement de fausses membranes. Ce n'est souvent que par l'emploi de méthodes complexes et de procédés divers qu'on peut affirmer l'exclusion de certains microbes.

Enfin le *Bacille diphtérique* peut végéter sur les muqueuses en ne produisant pas de fausse membrane. Il paraît souvent se comporter ainsi sur la muqueuse de la gorge, ne déterminant qu'une angine légère ou d'autres fois une angine grave, parfois du type des angines herpétiques ou phlegmoneuses, avec phénomènes d'intoxication diphtérique. C'est également ainsi qu'il a été rencontré dans des rhinites externes sans fausses membranes (2), dans le coryza purulent (3), dans un noma de la face (4) et dans un cas de vulvite gangreneuse (5). L'examen bactériologique seul peut permettre un diagnostic certain dans ces conditions.

Le Bacille de la diphtérie peut se rencontrer dans des collections purulentes. Seitz (6) et Hau (7) le signalent, virulent, accompagné du *Staphylocoque doré* ou du *Streptocoque*, dans du pus de panaris à marche spéciale, observés chez des enfants diphtériques ou des personnes soignant les diphtériques.

Associations microbiennes dans la diphtérie. — Rarement le *Bacille de Loeffler* se trouve seul dans les fausses membranes diphtériques. On peut rencontrer avec lui et isoler par les cultures un grand nombre d'espèces microbiennes. Parmi elles, beaucoup sont des saprophytes qu'on peut observer normalement dans la bouche ou sur la muqueuse des voies respiratoires antérieures ; elles ne paraissent avoir aucun effet sur la lésion et ne jouer aucun rôle dans l'infection. D'autres, au con-

(1) Troisier et Achalme, Sur une angine parasitaire causée par une Levure et cliniquement semblable au muguet (*Arch. de méd. expér.*, 1893, n° 1). — Teissier, Sur un cas d'angine pseudo-membraneuse avec présence exclusive dans l'exsudat des formes-levures du muguet (*Arch. de méd. expér.*, 1895, p. 265). — Stœcklin, Recherches cliniques et expérimentales sur le rôle des Levures trouvées dans les angines suspectes de diphtérie (*Arch. de méd. expér.*, 1898, p. 1).

(2) Todd, A form of external rhinitis due to the Klebs Loeffler Bacillus, appearing in children convalescent from scarlet fever (*Lancet*, I, 1898, p. 1458).

(3) Grenet et Lesné, Présence du Bacille diphtérique dans les coryzas purulents non pseudo-membraneux de l'enfant (*Arch. de méd. des enfants*, août 1898).

(4) Freymuth et Petruschky, Ein Fall von Vulvitis gangrenosa (Noma genitalium) mit Diphteriebacillenbefund (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1898, n° 15, p. 232).

(5) Freymuth et Petruschky, Zweiter Fall von Diphterienoma (Noma faciei) (*Ibid.*, n° 38, p. 600).

(6) Seitz, Diphteriebacillen in einem Panaritium (*Correspondenzbl. für Schweiz. Aertze*, 1er novembre 1891).

(7) Hau, Panaris diphtérique (*Lyon méd.*, 28 janvier 1900).

traire, sont des espèces nettement pathogènes, qui peuvent avoir sur l'organisme atteint une action spéciale s'ajoutant à celle du *Bacille diphtérique* et même imprimer à l'affection des caractères particuliers, pouvant l'aggraver par exemple. On conçoit alors tout l'intérêt que peut avoir le médecin à se renseigner exactement sur ce point (1).

Nous verrons plus loin, à propos du diagnostic bactériologique de la diphtérie, comment on peut, à l'aide des cultures, isoler et reconnaître les différents microbes qui sont souvent associés au *Bacille de Loeffler*. Nous dirons seulement quelques mots de ceux, en petit nombre, qui paraissent pouvoir influer sur le développement et l'évolution de l'affection.

Parmi ces derniers, le plus important, sans contredit, est le *Streptocoque pyogène*. Qu'il s'agisse d'une angine ou d'un croup diphtériques, l'association du Streptocoque est toujours un symptôme grave et assombrit le pronostic (2). C'est du reste conforme aux données de l'expérimentation ; nous avons vu que Roux et Yersin et d'autres à leur suite, avaient signalé le renforcement de la virulence du Bacille de Loeffler par l'injection simultanée d'une culture active ou même de produits solubles du Streptocoque. Il y a lieu cependant ici de faire une distinction et de ne pas considérer comme association véritable tous les cas où l'on constate la présence de Streptocoques dans les exsudats diphtériques. Hôte normal de la bouche, le *Streptocoque pyogène* isolé de la salive, dont il paraît bien difficile de faire une espèce particulière, est la plupart du temps tout à fait dépourvu de virulence ; sa présence, dans ces conditions, ne doit pas avoir plus d'importance que celle d'un saprophyte ordinaire et par conséquent ne pas peser sur le pronostic. Il est malheureusement difficile de pouvoir se prononcer d'une façon exacte sur la virulence d'un Streptocoque isolé par cultures; même en première culture, l'activité du microbe est souvent considérablement diminuée. On ne peut guère prendre comme base le nombre des colonies obtenues dans les cultures, ni la forme ou l'arrangement des chaînettes ou de leurs éléments ; nous avons vu, en traitant du *Streptocoque pyogène*, que ces caractères ne pouvaient fournir aucune indication sûre. L'état général du malade peut plutôt guider pour émettre un jugement sur le rôle que joue le Streptocoque. Il y a rôle actif certain de ce dernier lorsque l'état général est mauvais, la température élevée, montant rapidement, se maintenant au voisinage de 40°, jetage, diarrhée, gonflement ganglionnaire prononcé. Le pronostic est alors très grave ; c'est la forme qu'on peut nommer *Streptodiphtérie*. Lorsque au contraire l'état général reste bon, malgré la présence d'un grand nombre de Streptocoques dans les cultures ou les préparations, il n'y a pas lieu de songer à une véritable association microbienne. D'ailleurs, en usant de certains milieux, des plaques de gélose par exemple, on trouve, pour ainsi dire dans tous les cas, du Streptocoque en abondance.

(1) Spillmann et Widal, Les associations microbiennes et les infections mixtes (*Rapports au Congrès de médecine de Montpellier*, 1898). — Méry, Des associations microbiennes dans la diphtérie au point de vue clinique et bactériologique (*Congrès de gynécologie de Marseille*, 1898).

(2) Martin, Examen chimique et bactériologique de deux cents enfants entrés au pavillon de la diphtérie à l'hôpital des Enfants-Malades (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 335). — Barbier, De quelques associations microbiennes dans la diphtérie (*Arch. de méd. expér.*, III, 1891).

Parmi les Staphylocoques, la présence des *Micrococcus pyogenes aureus* et *Micrococcus pyogenes albus* n'est de marque défavorable que lorsque leurs colonies sont abondantes. Le petit Staphylocoque désigné par Roux et Martin sous le nom de *Coccus Brisou* (p. 634) se rencontrerait surtout dans les cas bénins. D'après ces auteurs, le pronostic est plutôt bénin d'une façon générale quand des Coccus se trouvent mêlés en grande quantité aux Bacilles spécifiques.

Les cas d'association vraie avec le *Pneumocoque* paraissent être rares. Le pronostic est assez sombre. Les fausses membranes sont grises, plus épaisses. Il y a lieu, ici aussi, d'éviter de considérer comme association toute présence du *Pneumocoque* dans les préparations ou les cultures; normal dans la bouche, il peut envahir secondairement la lésion sans imprimer de caractère spécial à l'affection.

Le *Colibacille* se retrouve assez fréquemment dans les fausses membranes diphtériques, surtout lorsqu'on le recherche par des méthodes appropriées comme le bouillon phéniqué. Les fausses membranes sont souvent alors épaisses, très envahissantes, d'odeur fétide. Il peut du reste seul produire des angines graves. C'est aussi un hôte fréquent de la bouche; en sa présence, il ne faut pas trop se hâter de conclure à une association vraie qui peut cependant exister; expérimentalement, il aggrave l'infection diphtérique (1). Dans ce cas, l'affection aurait une tendance à la chronicité.

Kuhnau (2) signale l'association du *Proteus vulgaris* dans plusieurs cas de diphtérie grave, s'étant terminés par la mort. Les fausses membranes avaient pris rapidement une apparence gélatiniforme et subissaient rapidement une fonte putrilagineuse, déterminant même la gangrène des amygdales sous-jacentes, de la nécrose des parties molles et des masses ganglionnaires voisines. Le *Proteus* isolé était très virulent pour les souris et les cobayes. Kuhnau attribue les lésions locales au *Bacille diphtérique* et les symptômes généraux septicémiques au *Proteus*.

On rencontre encore, dans les fausses membranes diphtériques, d'autres espèces actives qui peuvent certainement parfois influer sur la maladie, se trouver en association vraie. C'est, pour ne citer que les principales, le *Bacille de Friedlaender*, le *Micrococcus tetragenus*, le *Leptothrix buccalis*, des *Spirilles*, des *Levures*, celle du *Muguet* par exemple (p. 621). Rossel a signalé la présence d'anaérobies dans des angines diphtériques à complications gangreneuses.

Recherche et diagnostic.

La recherche et la constatation du *Bacille diphtérique* ont une très grande importance pour établir un diagnostic précis; les procédés qui y conduisent sont en train de passer dans la pratique médicale courante.

Au point de vue du diagnostic, la constatation du *Bacille de Loeffler* peut seule donner la certitude de la diphtérie; au point de vue du pronostic, on peut tirer des examens des indications précieuses. C'est la seule manière de reconnaître la diphtérie quand les fausses membranes font défaut.

(1) Blasi et Russo-Travalli, Contribution à l'étude des associations bactériennes dans la diphtérie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 387).

(2) Kuhnau, Ueber Mischinfektion mit Proteus bei Diphterie des Halsorgane (*Zeitschr. für klin. Med.*, XXXI, 1897, p. 567).

Pour le traitement, les avantages d'un diagnostic précoce ne sont plus à discuter. Le sérum donne des effets d'autant meilleurs qu'il est employé plus tôt; d'un autre côté, il est au moins inutile dans les pseudo-diphtéries. Du reste, un diagnostic exact est indispensable pour établir une juste statistique des résultats de la sérothérapie.

Au point de vue prophylactique, le diagnostic bactériologique de la diphtérie a une importance considérable, en ce sens qu'il permet d'isoler les individus porteurs du microbe pathogène, à un moment où les symptômes objectifs de la diphtérie font encore défaut, et de continuer l'isolement jusqu'au moment où tout danger de contagion a sûrement disparu, moment qui peut être éloigné de la disparition des symptômes, des fausses membranes en particulier. C'est l'examen bactériologique seul qui permettra d'isoler des individus porteurs d'angines en apparence bénignes, mais dues en réalité au *Bacille diphtérique*, ou atteints de *rhinites fibrineuses* si souvent dues à ce microbe, souvent sans danger pour le malade, mais cause puissante de contagion pour le voisinage.

Le diagnostic bactériologique de la diphtérie peut se faire sans trop de difficultés. Pour être complet, il doit comprendre plusieurs séries d'opérations : 1° l'examen direct de l'exsudat; 2° la mise en cultures; 3° l'inoculation des cultures ; secondairement : 4° l'inoculation simultanée des cultures et de sérum antidiphtérique ; 5° la recherche de l'agglutination.

1° **Examen direct de l'exsudat.** — Une parcelle de fausse membrane ou du mucus recueilli est étalée sur une lamelle; si la fausse membrane est trop consistante, il suffit de frotter la lamelle avec une surface fraîche; avec un tampon d'ouate, il suffit de faire un frottis sur la lamelle. La lamelle, séchée, est fixée dans la flamme, puis colorée au *bleu de Loeffler* (p. 295) ou au *bleu de Roux* (p. 297). On peut employer la méthode de Gram et une double coloration permettant de distinguer, à côté d'espèces ne se *décolorant pas* par le procédé, le *Bacille de la diphtérie* entre autres (Voy. p. 578), des espèces ne restant pas colorées à son aide. La préparation est examinée avec un objectif fort à sec, ou mieux à immersion homogène. Quand on a un grand nombre de ces préparations à faire, il est beaucoup plus commode de faire la préparation sur lame porte-objet et de se servir pour l'examen d'un objectif à immersion à l'eau ; on examine sans lamelle ; de cette façon, on procède bien plus rapidement et on économise beaucoup de lamelles.

On peut, sur de telles préparations, constater la présence des petits amas assez caractéristiques que forme souvent le Bacille de Loeffler dans les fausses membranes ; mais si l'examen est négatif, il n'est pas possible, par cette seule méthode, de conclure à l'absence du microbe en question, qui peut ne se rencontrer qu'en petite quantité dans l'exsudat ou être masqué par des éléments divers.

Malgré cela, cet examen direct est toujours à recommander ; c'est le seul moyen qui puisse donner des renseignements exacts sur la composition de la fausse membrane et la nature des diverses espèces bactériennes qui peuvent s'y trouver et dont beaucoup ne poussent que tardivement ou même pas du tout dans les cultures.

L'emploi des colorations de Crouch et de Neisser (p. 578) donne de meilleurs résultats que les méthodes ordinaires de coloration ; la première de ces colorations semble la plus recommandable. Les apparences

citées précédemment, et tout particulièrement la présence des grains colorés disposés comme il a été dit, paraissent, dans ces conditions, appartenir en propre au *Bacille de Loeffler*, et pouvoir le différencier nettement des espèces microbiennes, qui peuvent ici se trouver mélangées avec lui. C'est là un caractère précieux qui peut permettre, dans bien des cas, d'établir très rapidement un diagnostic (1).

Cependant, il faut savoir que parfois de véritables *Bacilles de la diphtérie* ne montrent pas de ces corpuscules polaires, tandis que des *Bacilles pseudo-diphtériques* en présentent assez fréquemment. Il ne faut donc pas regarder ces particularités de coloration comme un véritable caractère spécifique, et leur attribuer une valeur absolue pour le diagnostic.

Dans les cas négatifs ou douteux, il est nécessaire de recourir à la mise en cultures qui donne des indications plus complètes; de même, dans les cas positifs, la mise en cultures doit toujours apporter confirmation au diagnostic établi par l'examen direct qui ne peut jamais être considéré que comme provisoire.

2° **Mise en cultures.** — Pour retirer de réels avantages de cette opération, il est nécessaire d'user de milieux sur lesquels le *Bacille diphtérique* pousse mieux et plus vite que la plupart des espèces qui l'accompagnent habituellement dans les produits examinés. Les milieux à conseiller sont le sérum de Loeffler, le sérum ordinaire, la gélose ordinaire et la gélose de Deycke.

Sérum de Loeffler. — Loeffler emploie un sérum additionné d'un tiers de bouillon spécial contenant 1 p. 100 de peptone, 1 p. 100 de glucose et 0,5 p. 100 de sel (Voy. p. 580). L'ensemencement se fait sur le milieu coagulé. Le *Bacille diphtérique* y pousse très rapidement; les colonies sont nettement visibles après une douzaine d'heures. Mais beaucoup d'espèces poussent vite sur un milieu aussi nutritif, d'où difficulté assez grande pour l'isolement; les *Bacilles de la pomme de terre* entre autres peuvent envahir vite le milieu s'ils se trouvent en abondance. Pour éviter cet inconvénient, il faut recourir à des moyens spéciaux; à Vienne, on lave rapidement les fausses membranes à l'eau boriquée et on ne pratique l'ensemencement qu'après; on éloigne ainsi pas mal d'espèces qui pourraient gêner; le *Bacille diphtérique* ne serait pas atteint.

Sérum ordinaire coagulé. — Roux recommande beaucoup le sérum seul coagulé. Le *Bacille diphtérique* y pousse très bien; la plupart des espèces qui l'accompagnent végètent moins bien sur ce milieu moins nutritif que le précédent; leurs colonies grandissent moins vite, caractères précieux pour le diagnostic.

Les divers sérums paraissent également convenir. On utilise surtout le sérum de bœuf et le sérum de cheval. On peut très bien se servir de vieux sérum antidiphtérique; les cultures y poussent aussi bien que sur sérum normal.

L'ensemencement se fait de la façon suivante : un fil de platine est frotté sur la fausse membrane, sur une surface fraîche si possible. A l'aide de ce fil, *sans le recharger*, on ensemence successivement deux ou trois tubes de sérum, par deux stries chacun, ou en frottant toute

(1) Bigot, Diagnostic bactériologique de la diphtérie. Examen direct des fausses membranes. Thèse de Paris, 1899.

la surface du milieu. Les tubes sont mis à l'étuve à 35°, à l'abri de la lumière de préférence.

Souvent les cultures sont bonnes à examiner après douze à quinze heures; quelquefois même après huit heures; en tout cas, il faut les examiner au maximum avant dix-huit à vingt heures. Quelquefois, cependant, le développement est retardé; les cultures n'apparaissent qu'après vingt-quatre heures. C'est peut-être lorsqu'on a mis en pratique des lavages antiseptiques de la gorge.

Une culture de fausses membranes diphtériques, examinée vers la quinzième heure, montre, en nombre plus ou moins considérable, des colonies du Bacille spécifique, sous la forme de petites taches arrondies, assez saillantes, de la grosseur d'une tête d'épingle, d'une coloration blanc grisâtre, à centre plus opaque que la périphérie.

Le nombre de ces colonies est très variable; tantôt très nombreuses, elles peuvent devenir rares dans certains examens. Lorsqu'il y en a beaucoup, elles grandissent plus lentement. Elles sont naturellement plus nombreuses dans le tube ensemencé en premier.

En veillissant, ces colonies s'agrandissent en gardant toujours la forme circulaire et leur coloration blanc grisâtre.

On doit soumettre plusieurs de ces colonies à l'examen microscopique; c'est la seule manière d'établir un bon diagnostic. Une parcelle est étalée sur la lamelle, fixée, et soumise à l'action des réactifs colorants, comme il a été dit plus haut (p. 578). On peut alors constater les caractères propres au Bacille de la diphtérie décrits précédemment (p. 575). Nous avons vu que la forme bacillaire peut donner des indications pour le pronostic (p. 583).

La méthode de Gram est aussi à employer; d'après Zupnick (1), parmi les formes bacillaires qu'on peut être exposé à rencontrer, le *Bacille de Loeffler* seul resterait coloré, les autres se décoloreraient.

Il faut prélever de ces colonies bien isolées pour ensemencer des bouillons qui serviront aux inoculations.

Très peu d'espèces poussent aussi rapidement sur le sérum simple; la plupart de ces dernières se distinguent aux caractères particuliers de leurs colonies. Il est important de pouvoir reconnaître ces espèces d'une façon certaine.

C'est d'abord les colonies du *Bacille dit pseudo-diphtérique* qui ne doit être, comme nous le verrons plus loin, qu'un *Bacille diphtérique* tout à fait dépourvu de virulence. Les colonies sont identiques à celles du Bacille virulent; la forme est en tout semblable. L'inoculation seule peut renseigner. Cependant, le *Bacille pseudo-diphtérique* ne se présente que sous la forme de bâtonnets assez courts; si l'on trouve des Bacilles longs, intriqués, enchevêtrés, on a plutôt affaire au vrai *Bacille diphtérique*.

Plusieurs espèces de *Coccus* peuvent donner des colonies arrondies, blanchâtres, ressemblant plus ou moins à celles du Bacille de Loeffler et poussant parfois aussi rapidement sur sérum. L'examen microscopique lèvera facilement tous les doutes : les éléments, arrondis, n'ont aucune ressemblance avec les formes bacillaires.

(1) Zupnik, Ueber Variabilität der Diphteriebacillen (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1897, n° 50, p. 1085).

Un des plus fréquents est un petit Micrococue nommé par Roux et Martin *Coccus Brisou*, du nom de l'enfant qui l'a d'abord fourni. Les colonies sont plus blanches, plus transparentes, moins saillantes, d'une épaisseur plus uniforme. L'examen microscopique les montre formées de Coccus ronds, disposés en Staphylocoques, plus petits que les éléments du *Staphylocoque doré*. Comme cette espèce est encore peu définie, il vaut mieux donner ci-après les caractères qu'on lui attribue (Voy. p. 634).

Les colonies du *Staphylocoque doré* et du *Staphylocoque blanc* se reconnaissent à leur opacité plus grande, leur épaisseur uniforme, leurs bords taillés à pic, leur donnant au microscope l'aspect de gouttelettes d'huile. La coloration du premier ne devient bien évidente qu'après quelques jours. L'examen microscopique fera de suite voir la forme ronde des éléments et leur disposition en amas.

Le *Streptocoque pyogène* est fréquent dans ces conditions, seul ou associé au *Bacille diphtérique*. Ses colonies poussent très vite sur sérum, aussi vite que celles du Bacille de Loeffler, mais restent toujours très petites. C'est un semis de très petites gouttelettes muqueuses, transparentes, incolores, qu'on distingue surtout en regardant de biais la surface ensemencée. L'examen microscopique fera reconnaître de suite les chaînettes plus ou moins longues; on peut y retrouver, selon le cas, les aspects divers décrits précédemment (p. 352 et 353).

D'autres Microcoques peuvent encore se rencontrer accidentellement dans ces cultures sur sérum, principalement le *Pneumocoque* et le *Tétragène*; le simple examen microscopique fera de suite reconnaître la forme des éléments et permettra de les distinguer du Bacille de Loeffler.

Gélose ordinaire. — La gélose peptonisée est un très bon milieu pour le *Bacille de la diphtérie*; malheureusement, elle convient aussi à beaucoup d'espèces qui peuvent se trouver avec lui dans les fausses membranes. L'emploi des cultures sur gélose permet donc, mieux que le sérum, de se renseigner sur la nature de ces dernières. Le *Streptocoque pyogène*, en particulier, pousse très bien sur ce milieu; il y donne des colonies d'aspect très caractéristique, qui ont été décrites précédemment (p. 356). L'emploi de la gélose permet de reconnaître combien sa fréquence est grande dans les fausses membranes de la diphtérie et de diminuer alors l'importance de sa constatation aux côtés du *Bacille diphtérique*.

Le mieux est de verser une quantité suffisante de gélose fondue dans des boîtes de Petri bien stérilisées et de laisser refroidir. Pour la mise en culture, on soulève le couvercle et on ensemence en frottant la surface de la gelée avec une parcelle de membrane maintenue par un fil de platine ou avec un tampon d'ouate chargé du produit suspect. On place à l'étuve à 37° chaque boîte retournée, le *couvercle en bas* pour empêcher l'évaporation et la dessiccation de la gelée. Les cultures sont examinées au bout de dix-huit heures. La plupart des colonies ne présentent pas de caractères différentiels aussi nets que sur sérum simple, qui est certainement ici le milieu à préférer; la gélose, en particulier, est à réserver pour reconnaître les espèces associées au *Bacille diphtérique*.

Gélose de Deycke. — La préparation de cette gélose aux albuminates alcalins a été indiquée page 192. On l'emploie comme la précédente, en

boîtes de Petri, et on suit les mêmes indications pour les cultures. Le grand avantage de ce milieu serait que le *Streptocoque* y pousserait mal, moins bien encore que sur sérum, ce qu'on n'observe pas toujours. Le *Bacille diphtérique* y présente les mêmes caractères que sur sérum.

Gélose au sérum de Tochtermann. — Tochtermann (1) recommande une *gélose glucosée au sérum* de la composition suivante : une solution de gélose à 2 p. 100 est additionnée de 1 p. 100 de peptones, 1/2 p. 100 de chlorure de sodium et d'une proportion de glucose variant de 0,3 à 0,5 p. 100 ; on filtre et on ajoute au produit du sérum de sang de mouton à parties égales ou en proportion de 3 pour 2 de gélose. On fait bouillir le mélange pendant un quart d'heure à une demi-heure ; on filtre et on stérilise à la vapeur. On voit qu'il n'est pas nécessaire de prendre du sérum stérile. Il faut éviter de chauffer pendant plusieurs heures, le milieu en souffrirait. Pour l'usage, on fait fondre à chaud la quantité voulue et on la coule dans des boîtes de Petri stérilisées. Après solidification, on ensemence comme d'habitude.

Les plaques mises à l'étuve, retournées le couvercle en bas, montrent après douze heures, quelquefois même après huit heures, de petites colonies de *Bacille de la diphtérie.* Après vingt heures, ces colonies sont bien visibles à l'œil nu avec leur aspect arrondi, leur milieu sombre un peu jaunâtre, leur bord transparent. Les colonies de *Streptocoque* et de *Staphylocoque* s'en différencient très bien.

Gélose au sérum de Joos. — Joos (2) dit obtenir de très bons résultats du milieu suivant : 300 centimètres cubes de sérum sanguin sont mélangés à 50 centimètres cubes de solution normale de soude et 150 centimètres cubes d'eau distillée ou de bouillon. Le mélange, placé dans une fiole à fond plat, est mis, pendant deux ou trois heures, au bain-marie à 60°-70°. On laisse alors la température s'élever à 100°, ou mieux on place le ballon pendant une demi-heure à trois quarts d'heure dans le stérilisateur à vapeur; on ajoute ensuite 500 centimètres cubes de bouillon peptonisé à 2 p. 100 et 20 grammes de gélose qu'on fait dissoudre le plus vite possible. Quand la solution est faite, on filtre à chaud, on répartit dans des boîtes de Petri ou dans des tubes de provision et on stérilise pendant un quart d'heure à 110° à l'autoclave. Ce milieu très transparent a la consistance de la gélose ordinaire avec une couleur un peu plus foncée. On peut prendre indifféremment du sérum de cheval, de bœuf, de porc ou de mouton.

Le développement du *Bacille de la diphtérie* est très rapide sur ce milieu. Souvent on peut déjà apercevoir de très petites colonies après quatre ou cinq heures à 37° ; après dix à douze heures, les colonies sont déjà bien développées et plus grosses que celles que présente le sérum de Loeffler après le même temps. On les voit à l'œil nu comme de petites colonies grisâtres, d'apparence humide ; au microscope, à un faible grossissement, elles sont granuleuses, d'un brun noirâtre, avec des bords irréguliers, filamenteux. Le *Streptocoque* et les *Staphylocoques*

(1) Tochtermann, Ein aus Blutserum gewonnener sterilisierbarer Nährboden, zugleich ein Beitrag zur Frühdiagnose der Diphterie (*Centralbl. für innere Med.*, 1895, n° 40, p. 961).

(2) Joos, Untersuchungen über Diphteriediagnose (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 296 et 351).

demandent beaucoup plus de temps pour croître; leurs colonies sont à peine visibles après vingt-quatre heures.

La *gélose glycérinée* ordinaire donne de très bons résultats, mais les espèces autres que le *Bacille de la diphtérie* y poussent trop vite; la différenciation devient plus difficile.

Michel (1) vante l'emploi du sérum de cheval additionné de 1 partie de bouillon de Loeffler pour 3 de sérum. Le Bacille de la diphtérie y pousse beaucoup plus vite que sur sérum simple, ou que sur sérum de bœuf simple ou additionné d'une même quantité de bouillon de Loeffler. Mais c'est un milieu également très favorable aux autres microbes qui accompagnent fréquemment le Bacille de la diphtérie.

En résumé, c'est encore le procédé de Roux et Yersin, ensemencement sur sérum simple coagulé, qui présente le plus d'avantages et la plus grande facilité d'exécution. Pour être complet, toutefois, il est très utile, après avoir ensemencé des tubes de sérum comme cela a été indiqué, de faire une culture sur gélose ordinaire et une sur l'une ou l'autre des géloses dont il vient d'être parlé, ces dernières pouvant donner des indications complémentaires précieuses que ne fourniraient pas ou imparfaitement les cultures sur sérum.

Il est, du reste, facile aux médecins d'ensemencer directement des tubes de sérum au lit même du malade en touchant les fausses membranes ou la muqueuse suspecte avec un fil de platine stérilisé. Ces tubes seront alors adressés au plus tôt aux laboratoires qui s'occupent du diagnostic bactériologique de la diphtérie. Les résultats de l'examen pourront être donnés d'ordinaire de douze à dix-huit heures après la mise à l'étuve; quelquefois plus tôt, après huit ou neuf heures; d'autres fois plus tard, surtout quand on a fait des lavages de la gorge avec des antiseptiques forts qui retardent le développement microbien.

3° **Inoculation des cultures.** — L'examen microscopique ne renseigne pas sur le degré de virulence que possèdent les microbes observés. L'expérience démontre qu'on ne peut pas se fier complètement aux données de Martin qui regarde les formes courtes du *Bacille diphtérique* comme peu virulentes et les formes longues, les bâtonnets intriqués, enchevêtrés, comme très actives. On rencontre des formes longues très peu virulentes ou même tout à fait inactives, et des formes courtes très virulentes. On peut enfin avoir affaire à un Bacille du type pseudo-diphtérique.

La plus ou moins grande abondance des colonies diphtériques dans les cultures peut être une indication, un Bacille très virulent en donnant d'ordinaire beaucoup plus qu'un autre peu virulent; mais ce n'est pas là non plus une indication formelle.

Pour faire un examen complet, il faut recourir à l'inoculation au cobaye. On ensemence des cultures en bouillon et, après un ou deux jours de séjour à l'étuve, on inocule un cobaye avec 1 centimètre cube de culture comme il a été dit précédemment (p. 598). Si l'animal succombe avec les symptômes caractéristiques, on a la preuve incontestable de la

(1) Michel, Das Wachstum der Diphteriebacillen auf verschiedenen Sera und Glycerinagar (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 259).

nature diphtérique du produit ; l'époque de la mort, plus ou moins éloignée du moment de l'inoculation, renseigne sur le degré de l'activité du microbe. Il est à recommander d'ensemencer le bouillon qui doit fournir la culture à inoculer avec plusieurs des colonies que l'on a obtenues dans les premières recherches, de façon à éviter de tomber sur une colonie peu ou pas virulente qui ne donnerait alors que des renseignements imparfaits.

Il serait désirable que l'on pût opérer de même avec le *Streptocoque* lorsqu'on le rencontre avec le *Bacille diphtérique*; il serait alors possible de déterminer la part qu'il a dans l'association. Malheureusement, la virulence de ce microbe se modifie tellement, même en première culture, qu'on ne pourrait guère se fier aux résultats observés, sauf dans les cas très positifs cependant.

4° **Emploi du sérum antidiphtérique.** — Pour distinguer un *Bacille diphtérique vrai* d'un *Bacille pseudo-diphtérique* un peu virulent pour le cobaye, Spronck (1) conseille l'emploi du sérum antidiphtérique injecté au cobaye six à douze heures avant la culture, en quantité suffisante pour immuniser l'animal, par exemple 1 centimètre cube de sérum actif au cent-millième pour un cobaye de 300 grammes. Un cobaye témoin est naturellement inoculé avec la culture seule. Si l'on a affaire à un *Bacille diphtérique* vrai, il ne se produit rien chez l'animal immunisé, pas même une minime réaction locale; le pouvoir protecteur du sérum est manifeste. Dans ces conditions, le *Bacille pseudo-diphtérique* produit de l'œdème, plus ou moins prononcé suivant son activité. Un tel contrôle n'est plus possible, toutefois, avec un *Bacille pseudo-diphtérique* dépourvu de toute activité, ne provoquant pas de trace d'œdème au point d'inoculation.

5° **Agglutination.** — L'addition de sérum antidiphtérique à des cultures bien émulsionnées de *Bacille de la diphtérie*, en proportion de 1 p. 10 ou p. 20, peut produire une agglutination souvent bien évidente, avec formation de grumeaux plus ou moins volumineux, se déposant peu à peu au fond du tube, comme l'a montré le premier Nicolas (2). Mais le phénomène paraît inconstant. Il est des échantillons de *Bacilles diphtériques* vrais, bien reconnus comme tels à tous leurs caractères, en particulier à leur virulence et à leur pouvoir toxigène, qui ne montrent pas trace d'agglutination. Lorsque la réaction fait défaut, il est donc difficile d'en tenir compte. En tout cas, lorsqu'elle se produit, elle ne paraît pas pouvoir renseigner sur la virulence du microbe employé (3). La réaction peut aussi s'observer avec du sérum sanguin de diphtériques, mais aussi irrégulièrement (4).

(1) Spronck, Le diagnostic bactériologique de la diphtérie contrôlé par le sérum antidiphtérique (*Sem. méd.*, 1896, n° 40, p. 317). — *Id.*, Le diagnostic bactériologique de la diphtérie et les difficultés causées par les Bacilles pseudo-diphtériques (*Ibid.*, 1897, n° 45, p. 353).

(2) Nicolas, Les rapports de l'agglutinabilité de divers échantillons de B. de Loeffler avec leur virulence et avec le pouvoir préventif du sérum antidiphtérique à leur égard (*Soc. de Biol.*, 3 décembre 1898).

(3) Nicolas, L'agglutination du B. de Loeffler par le sérum antidiphtérique est-elle constante? (*Soc. de Biol.*, 4 juin 1898).

(4) Bruno, Ueber Diphterieagglutination und Sérodiagnostik (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1898, n° 51, p. 1127).

BACILLES PSEUDO-DIPHTÉRIQUES

Loeffler (1), en 1887, a le premier signalé, dans les fausses membranes diphtériques, un Bacille semblable comme formes et cultures au Bacille diphtérique vrai, mais en différant par son manque de virulence, et a proposé de le nommer *Bacille pseudo-diphtérique*. Von Hoffmann-Wellenhof (2) l'a retrouvé peu après dans les fausses membranes diphtériques, dans des diphtéries consécutives à la rougeole et à la scarlatine, dans une angine catarrhale simple et enfin sur une muqueuse tout à fait normale. Zarniko (3), Escherisch (4), Spronck (5), sont, entre autres, avec Loeffler, partisans de la séparation absolue des deux espèces. Roux et Yersin (6), au contraire, ne font du *Bacille pseudo-diphtérique* qu'une forme très atténuée du *Bacille diphtérique vrai*. D'après ce que l'on sait, en effet, de l'atténuation et de la disparition complète de la virulence de certains microbes, il est difficile de baser une distinction spécifique sur ce seul caractère ; le retour non observé à l'état virulent n'est pas une objection à faire, car on sait que nous ne sommes pas encore en mesure de faire toujours reparaître un caractère biologique perdu par une espèce.

Il serait, cependant, du plus haut intérêt d'élucider cette question, au point de vue de l'étiologie et de la prophylaxie de la diphtérie d'abord, ensuite à celui du diagnostic bactériologique de cette affection. Si le *Bacille pseudo-diphtérique*, en effet, n'est qu'une forme très atténuée du *Bacille diphtérique*, il est à craindre qu'il ne puisse, dans des circonstances que nous ne connaissons pas, peut-être avec l'action simultanée d'autres microbes, récupérer sa virulence et de simple saprophyte devenir pathogène. D'un autre côté, le diagnostic bactériologique de la diphtérie par le seul examen des cultures devient douteux, la recherche de la virulence par l'inoculation devient nécessaire.

Les auteurs cités en premier donnent, comme caractères distinctifs, des particularités d'aspect, de coloration ou de culture, qui, il faut le reconnaître, sont loin d'être constantes et avoir conséquemment la valeur qu'ils leur attribuent.

Pour d'autres observateurs, De Simoni (7) en particulier, il n'y aurait pas un *Bacille pseudo-diphtérique*, mais plusieurs *Bacilles pseudo-diphtériques* qu'on pourrait différencier par les caractères culturaux.

(1) Loeffler, Untersuchungen über Diphteriebacillen (*Centralbl. für Bakt.*, II, 1887, p. 105).

(2) Von Hoffmann-Wellenhof, Untersuchungen über den Klebs-Löfflerschen Bacillus (*Wiener med. Wochenschr.*, 1888).

(3) Zarniko, Beiträge zur Kenntniss des Diphteriebacillus (*Centralbl. für Bakt.*, VI, 1889).

(4) Escherisch, Zur Frage der Pseudodiphteriebacillus und der diagnostischen Bedeutung der Löfflerschen Bacillus (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1893).

(5) Spronck, Le diagnostic bactériologique de la diphtérie contrôlé par le sérum antidiphtérique (*Sem. méd.*, 12 août 1896). — *Id.*, Le diagnostic de la diphtérie et les difficultés causées par les Bacilles pseudo-diphtériques (*Ibid.*, 29 septembre 1897).

(6) Roux et Yersin, Contribution à l'étude de la diphtérie ; 3e mémoire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, p. 409).

(7) De Simoni, Beitrag zur Morphologie und Biologie der Pseudodiphteriebacillen (*Centralbl. für Bakt.*, XXVI, 1899, p. 673 et 757).

Voyons d'abord quels sont les caractères qui peuvent être attribués à l'ancien type de *Bacille pseudo-diphtérique*.

Morphologie. — L'observation démontre que ce Bacille peut présenter la même variation de formes que le *Bacille diphtérique*. Pour certains, Spronck entre autres, la forme courte serait plus fréquente, peut-être même typique; mais il faut reconnaître qu'on rencontre de longs bâtonnets, du vrai type diphtérique, enchevêtrés, à dispositions rappelant celles qu'on reconnaît au *Bacille de Loeffler* virulent. La disposition parallèle serait ici plus commune; Martin le signale aussi pour son Bacille court.

Les réactions colorantes ne peuvent guère donner de résultats précis. Elles paraissent bien voisines, sinon identiques, dans les deux types. Les colorations de Neisser et de Crouch, données trop souvent comme différentielles (p. 578 et 625), ne peuvent servir ici, le *Bacille pseudo-diphtérique* pouvant montrer ses corpuscules polaires identiques à ceux que donne le *Bacille diphtérique* vrai. Fraenkel (1) dit cependant n'avoir eu qu'une fois la réaction avec la méthode de Neisser sur cinquante-quatre cultures de *Bacille pseudo-diphtérique*.

Cultures sur sérum coagulé. — L'aspect des colonies est absolument le même qu'avec le *Bacille diphtérique*. On a signalé une coloration plus blanche, un aspect plus humide; il est très difficile de saisir la différence.

Cultures sur gélose. — Le *Bacille pseudo-diphtérique* pousserait plus abondamment et plus vite; ses colonies seraient bien visibles à l'œil nu, quand celles du *Bacille de Loeffler* ne se distingueraient qu'à la loupe. Escherisch a signalé une coloration brunâtre du milieu de culture, s'étendant de la surface aux parties profondes; beaucoup ne l'ont jamais observée. Elle ne se remarque pas en tout cas avec le *Bacille diphtérique*.

Cultures sur gélatine. — Zarniko et Escherisch disent qu'il pousse très bien sur gélatine à la température de la chambre, tandis que le *Bacille diphtérique* n'y végète que très peu à partir de 23 degrés.

Cultures dans le bouillon. — Le *Bacille pseudo-diphtérique* pousse abondamment et ne *rend jamais le bouillon acide*; deux ou trois jours après l'ensemencement, le bouillon est fortement alcalin, plus qu'au début, alors qu'à ce moment les cultures du *Bacille diphtérique* ont déjà une réaction nettement acide.

Inoculation expérimentale. — Les cultures sont absolument sans action bien marquée sur le cobaye, même à la dose de 4 à 5 centimètres cubes. Spronck signale cependant parfois, avec une dose de 1 centimètre cube en inoculation sous-cutanée, la production d'un petit œdème au point d'inoculation, disparaissant au bout de quarante-huit heures, et avec des doses de 3 centimètres cubes la production de symptômes généraux, manque d'appétit, hérissement du poil, diminution de poids. D'après lui, le sérum antidiphtérique n'aurait aucun effet préventif sur cette réaction locale, mais en augmenterait plutôt l'étendue; ce qui dé-

(1) C. Fraenkel, Die Unterscheidung der echten und der falschen Diphteriebacillen (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1897, n° 50, p. 1087).

montrerait bien que l'on n'a pas affaire à un *Bacille diphtérique* atténué, mais à un type distinct. Le sérum servirait ici de moyen de diagnostic.

La présence de ce *Bacille pseudo-diphtérique* serait fréquente, même chez les individus sains. Hoffmann l'a trouvé 26 fois sur 45 personnes n'ayant pas la diphtérie. Roux et Yersin le signalent 26 fois sur 59 enfants de l'école d'un village où depuis longtemps ne s'était montré aucun cas de diphtérie et souvent chez des enfants atteints d'angine simple ou rubéolique; dans ces cas, le Bacille est très rare, les tubes ensemencés avec du mucus ne donnent que quelques colonies. On devrait le regarder comme un hôte fréquent de la cavité buccale.

Comme on peut rencontrer tous les intermédiaires entre un *Bacille diphtérique* très virulent et un Bacille très atténué ou tout à fait inactif, que nous savons, d'un autre côté, qu'il est très difficile de faire reparaître la virulence d'un Bacille très atténué, il semble assez rationnel d'admettre que ce *Bacille pseudo-diphtérique* peut, dans bien des cas au moins, n'être qu'une forme tout à fait atténuée du *Bacille diphtérique* vrai.

On a certainement abusé de cette qualification générale de *Bacille pseudo-diphtérique* en réunissant sous ce nom des microbes très divers qui peuvent ne présenter avec le *Bacille diphtérique* vrai que des rapports assez éloignés, qui ne lui ressemblent guère, par exemple, que par quelques particularités de coloration. On en trouvera une énumération assez longue et les indications bibliographiques dans un mémoire récent de De Simoni (1). Beaucoup de ces espèces semblent devoir être nettement écartées comme *Bacilles pseudo-diphtériques*; il en est de même du *Bacille pseudo-diphtérique sporogène* décrit antérieurement par ce même auteur (2). Ceci peut encore faire ressortir l'importance de l'inoculation et de l'emploi du sérum préconisé par Spronck (p. 630) pour le diagnostic exact du *Bacille de la diphtérie*.

Ces Bacilles, désignés comme pseudo-diphtériques, ne se rencontrent pas seulement dans les conditions où l'on trouve le *Bacille de la diphtérie*, dans les fausses membranes principalement, mais dans bien d'autres conditions.

On en a signalé sur les muqueuses buccale ou nasale, saines ou malades, sur la conjonctive oculaire, sur la muqueuse vaginale (3), dans des crachats divers, dans la gangrène pulmonaire, dans l'exsudat pneumonique, dans des sécrétions d'otites, sur la peau dans des cas d'acné ou d'eczéma, dans des pustules de variole, dans le pus de phlegmon du cou (Reclus), dans le contenu intestinal de dysentériques (Kruse et Pasquale) (4).

Le *Bacille du Xérosis épithélial de la conjonctive* paraît bien n'être que le *Bacille pseudo-diphtérique* ordinaire qui se trouve en grande abondance sur la conjonctive malade et se rencontre également sur la

(1) De Simoni, Beitrag zur Morphologie und Biologie der Pseudo-diphteriebacillen (*Centralbl. für Bakt.*, XXVI, 1899, p. 673 et 757).

(2) De Simoni, Ueber einen sporogenen Pseudo-diphterie bacillus (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 294).

(3) Veillon et Hallé, *Arch. de méd. expér.*, VIII, 1896.

(4) Kruse u. Pasquale, *Zeitschr. für Hygiene*, XVI, 1894.

conjonctive saine. Il ne présenterait jamais de corpuscules polaires par la coloration de Neisser (1).

COCCUS BRISOU

C'est un petit Microcoque ainsi nommé par Roux et par Martin (2) du nom de l'enfant qui le leur a fourni le premier.

Les éléments sont de petits coccus immobiles, souvent en diplocoques ou en petits amas de forme irrégulière. On en trouve souvent un grand nombre dans la fausse membrane.

Ils se colorent bien au bleu de Loeffler et au bleu de Roux et *restent colorés* par la méthode de Gram.

C'est un microbe aérobie, se cultivant bien sur les milieux habituels, à 37 degrés (3).

Sur *plaques de gélatine*, il forme de petites colonies qui liquéfient le milieu.

Le *bouillon* est troublé régulièrement.

Sur *sérum*, l'ensemencement, fait pour le diagnostic, donne des colonies arrondies, blanchâtres, peu saillantes, atteignant en moins de vingt-quatre heures la grosseur d'une tête d'épingle. Le sérum n'est jamais liquéfié.

Sur *gélose*, le développement se fait bien.

Le *lait* n'est pas coagulé.

Les cultures n'ont aucune action pathogène.

Il ne se forme pas d'acide dans les cultures ; les nitrates ne sont pas réduits.

On le trouve souvent dans les angines, seul ou associé au *Bacille de Loeffler*.

Les fausses membranes que produit ce coccus sur les muqueuses ressemblent souvent beaucoup à celles du *Bacille de Loeffler* ; elles se reproduisent aussi très vite lorsqu'on les enlève. Elles paraissent cependant plus friables, moins élastiques et plus blanches.

L'existence du *Coccus Brisou* avec le *Bacille diphtérique* serait d'un pronostic favorable.

Ce Coccus Brisou est peut-être à identifier avec le *Microcoque* de Barbier (4) qui se développe lentement sur la gélatine et n'est pas pathogène pour le cobaye.

DIPHTÉRIES ANIMALES

Un certain nombre d'espèces animales peuvent présenter des symptômes rappelant la diphtérie de l'homme, entre autres montrer des

(1) Francke, Xérose, Diphterie und Pseudodiphterie-bacillus (*München. med. Wochenschr.*, 1898, n° 16). — Schanz, Der Sogenannte Xerosebacillus und die ungiftigen Lœffler'schen Bacillen (*Zeitschr. für Hygiene*, XXXII, 1899, p. 435).

(2) Roux, Martin et Chaillou, Trois cents cas de diphtérie traités par le sérum antidiphtérique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 650).

(3) Routh, Micrococcus Brisou (*Boston med. and. Surg. Journ.*, vol. CXXXIV, 1896, n° 4, p. 83).

(4) Barbier, De quelques associations microbiennes dans la diphtérie (*Arch. de méd. expér.*, III, 1891). — Barbier et Ulmann, De la diphtérie (*Actualités médicales*).

fausses membranes typiques dans la gorge, le larynx, la trachée, voire même être atteintes de vrai croup.

Ce sont surtout les oiseaux, principalement ceux de basse-cour, qui sont sujets à ces diphtéries; les lapins, les veaux, les moutons, exceptionnellement le chien, montrent des affections similaires. On a voulu faire jouer à ces affections, principalement à celle des oiseaux, un rôle important dans la transmission de la diphtérie à l'homme et la production d'épidémies. Les recherches expérimentales prouvent qu'il n'y a aucun rapport avec le *Bacille diphtérique* et les microbes isolés dans ces différents cas; les rapports observés, si l'on a été en présence de diphtérie vraie chez l'homme, ne doivent être considérés que comme de simples coïncidences. Cependant bien des faits anciens d'observation clinique, quelques faits appuyés de preuves bactériologiques, comme celui de Loir et Ducloux, démontrent que ces affections peuvent s'implanter chez l'homme, y causant non plus de la diphtérie vraie à Bacille de Loeffler, comme on l'a voulu longtemps, mais des affections pseudo-diphtériques comme celles que nous avons vu pouvoir se développer sous l'influence d'autres infections microbiennes. D'autre part, plusieurs animaux domestiques, le chat, la vache, semble-t-il, peuvent gagner la diphtérie vraie au contact de l'homme malade, et être ainsi une source de contage. On voit par là que le médecin est loin d'avoir à se désintéresser de ces diphtéries animales.

DIPHTÉRIE AVIAIRE

Un grand nombre d'oiseaux de basse-cour, de faisanderie, de volière, sont sujets à une affection diphtérique qui se caractérise par un exsudat se produisant à la surface de la muqueuse de la bouche et du pharynx, montrant une grande tendance à s'étendre aux fosses nasales et à la muqueuse oculaire. Il se forme des fausses membranes souvent épaisses, d'une consistance plutôt caséeuse qu'élastique. Ces fausses membranes enlevées, se reproduisent très rapidement; elles peuvent avoir une odeur forte, fétide. Chez la poule, la maladie se localise souvent sous la langue; il s'y forme une fausse membrane jaunâtre, consistante, élastique, difficile à détacher (pépie); au-dessous, la muqueuse est intacte ou ulcérée, parfois même nécrosée.

La santé, peu altérée au début, est atteinte à la longue. L'oiseau peut mourir d'asphyxie s'il survient des fausses membranes dans le larynx, ou tombe dans un véritable état cachectique, se hérisse, refuse de manger, se refroidit, tombe dans le coma et meurt. On n'observe jamais de symptômes de paralysie, si caractéristiques de la diphtérie vraie.

La maladie est contagieuse de proche en proche et détermine souvent dans les élevages des épidémies meurtrières.

Cette diphtérie des volailles paraît due à plusieurs espèces microbiennes (1). Une déterminerait la diphtérie des pigeons, c'est celle que Loeffler a décrite sous le nom de *Bacillus diphteriæ columbarum*. Une ou plusieurs autres occasionneraient les diphtéries des poules, dindons, faisans, petits oiseaux. Il est certaines diphtéries des oiseaux qui sem-

(1) Galli-Valerio, L'état actuel de la question sur l'identité de la D. de l'homme et des animaux (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 500).

blent pouvoir être produites par des êtres d'autre nature, des Protozoaires flagellés.

Enfin, il semble que le *Bacille de Loeffler* vrai puisse occasionner certaines affections des volailles. C'est ce qui résulte des recherches de Gallez (1) qui a rencontré dans l'affection des volailles désignée par les vétérinaires sous le nom de catharre contagieux ou morve, un Bacille ne différant du vrai *Bacille diphtérique* que par une virulence moindre. A la dose de 3 à 5 centimètres cubes, il tue le cobaye avec des phénomènes identiques à ceux produits à dose moindre par le *Bacille diphtérique* bien virulent. Chez les poules, il reproduit les symptômes de la maladie primitive, sécrétions glaireuses des muqueuses de la bouche, des narines et de l'œil, un amaigrissement rapide, la paralysie des pattes; l'affection est très grave et très contagieuse. Le sérum antidiphtérique a une action retardante certaine, mais cependant guérit difficilement.

Gratia et Liénard (2) ont isolé de fausses membranes de volailles un assez grand nombre d'espèces microbiennes, du Colibacille, des Staphylocoques, des Streptocoques, du Tétragène et une fois seulement un Bacille semblable au Bacille de Loeffler, mais à virulence peu marquée.

Ferré (3) a isolé un Bacille se colorant bien à la méthode de Gram et présentant des caractères morphologiques voisins de ceux du *Bacille de Loeffler*, se trouvant sous les formes longues, moyennes ou courbes, donnant des cultures semblables d'aspect, virulent pour le cobaye, le lapin, les oiseaux, non virulent pour la souris. Le sérum antidiphtérique agit favorablement sur les fausses membranes qu'il provoque et sur les accidents produits par la toxine obtenue de ses cultures. Chez le cobaye et la poule, cette toxine produit particulièrement des accidents de paralysie.

Y a-t-il identité entre ces Bacilles et le vrai *Bacille de la diphtérie*? C'est possible; mais il faut des données plus complètes pour pouvoir l'affirmer. Les caractères morphologiques sont peu de chose, on l'a vu; ce qu'il est nécessaire de mettre en évidence pour le faire, c'est le fait de production de la toxine spécifique et celui de la destruction de cette toxine par l'antitoxine spécifique.

Ces observations ont cependant un intérêt réel au point de vue de la transmission de la diphtérie à l'homme.

DIPHTÉRIE DES PIGEONS

La diphtérie est une affection fréquente chez les pigeons; elle décime souvent les colombiers.

Le pigeon malade est frissonnant, a les plumes hérissées, les yeux fermés, le bec entr'ouvert, présente de la diarrhée. La gorge, la base de la langue, le palais sont couverts de fausses membranes caséeuses, jau-

(1) Gallez, Recherches expérimentales sur l'origine aviaire de la D. (*Acad. de méd. de Belgique*, 28 mars 1896).

(2) Gratia et Liénard, Bactériologie de la D. aviaire (*Acad. de méd. de Belgique*, 30 avril 1898).

(3) Ferré, D. aviaire (*Journ. de méd. de Bordeaux*, juillet et août 1896). — *Id.*, D. humaine et D. aviaire (*Congrès intern. d'hygiène de Madrid*, 1898).

nâtres. L'appétit disparaît vite ; il existe une soif vive. La mort survient d'ordinaire en quelques jours.

Loeffler (1) a isolé de l'exsudat et du sang des organes un Bacille spécial cause de l'affection, qu'il a nommé *Bacillus diphteriæ columbarum*. On trouve en outre, dans l'exsudat, de nombreux Micrococques et des formes de Levures.

Morphologie. — Les bâtonnets sont un peu plus longs et plus fins que ceux de la septicémie du lapin, toujours immobiles ; leurs extrémités sont arrondies ; ils se disposent le plus souvent les uns à côté des autres, en petits amas. Ils se *décolorent* par la méthode de Gram.

Cultures. — Culture sur gélatine. — Sur *gélatine*, en piqûre, ils donnent à la surface une petite colonie blanchâtre, ressemblant à celle du *Bacille typhique*; le long de la piqûre, de petites colonies rondes, blanches. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Culture sur gélose et sur sérum. — Il se forme une bande grisâtre, assez transparente.

Culture sur pomme de terre. — La culture se distingue peu facilement, par une simple nuance un peu grise, de la surface où elle se développe.

Culture sur bouillon. — Il se produit un trouble léger ; les cultures ne donnent pas la réaction de l'indol.

Inoculation. — Le microbe est pathogène pour les pigeons, les souris, les lapins, les petits oiseaux; beaucoup moins pour les poules, les rats, les cobayes; le chien est tout à fait réfractaire.

La souris est l'animal le plus sensible. Elle succombe en cinq à dix jours à l'inoculation sous-cutanée de culture. La rate est hypertrophiée, le foie marbré, les poumons congestionnés par places. Le Bacille se retrouve en abondance dans le sang de tous les organes.

Les pigeons jeunes sont plus sensibles que les vieux. L'inoculation de culture dans les muscles pectoraux donne, au bout de trois à quatre jours, une induration de la grosseur d'une noisette entourée d'une région œdématiée. Le centre se nécrose, la peau s'ulcère et l'abcès se vide ; il peut se former un séquestre. En scarifiant la muqueuse buccale et mettant du produit de culture au contact des plaies, il se forme des fausses membranes, la maladie évolue et la mort survient en une ou trois semaines. Les Bacilles se retrouvent dans tous les organes.

DIPHTÉRIE AVIAIRE PROPREMENT DITE

Tous les oiseaux de basse-cour, les poules principalement, peuvent présenter une affection diphtérique distincte de la précédente. La maladie est souvent grave et évolue vite, ou a une forme plus lente, se terminant quand même fréquemment par la mort ou passant à l'état chronique.

(1) Loeffler, Untersuch. über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der D. bei Menschen, bei der Taube und beim Kalbe (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, 1884, p. 421).

Haushalter (1) à Nancy, Loir et Ducloux (2) à Tunis, ont étudié cette affection et ont isolé des lésions le même microbe.

Les fausses membranes sont tantôt sèches, tantôt molles, caséeuses. Elles peuvent envahir rapidement toute la muqueuse de la bouche, des fosses nasales, la conjonctive, ou se limiter en quelques endroits ; limitées sous la langue, elles donnent ce que l'on appelle communément la *pépie*. Lorsqu'elles ne forment que des plaques isolées, elles peuvent ne déterminer aucun trouble; l'animal les conserve souvent longtemps en restant en bonne santé.

Les poules atteintes présentent une grande prostration et une somnolence très marquée qui leur donnent un aspect assez particulier (fig. 239).

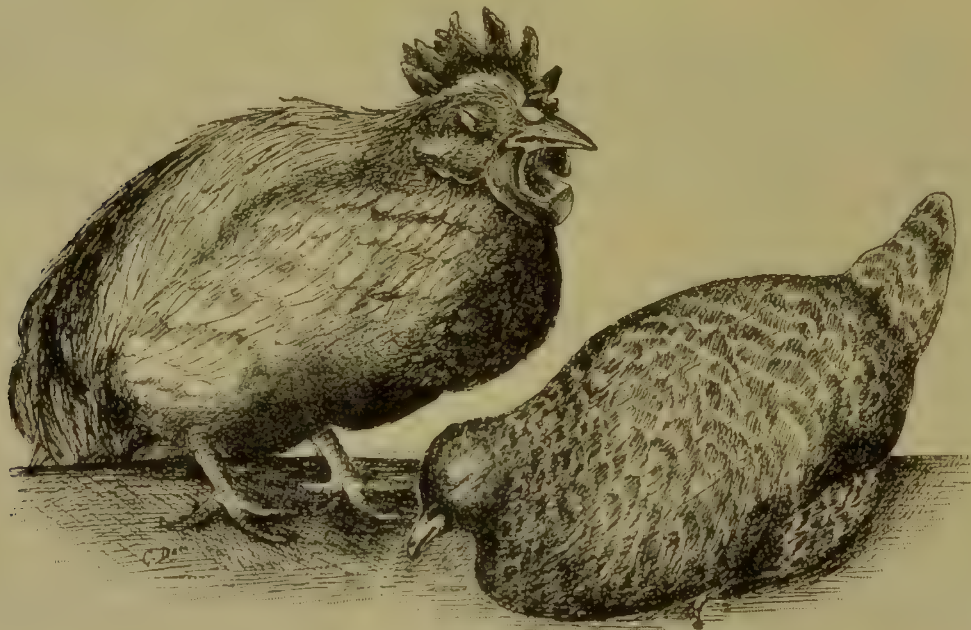


Fig. 239. — Poules atteintes de diphtérie aviaire.

La maladie est causée par un microbe que l'on trouve en grande abondance dans tous les tissus et liquides de l'organisme d'un oiseau qui a succombé.

Morphologie. — Les éléments sont des bâtonnets de la grandeur du *Bacille tuberculeux*, d'après Haushalter, lorsqu'on les examine dans le sang; plus courts, parfois presque ovoïdes, dans les cultures; arrondis aux extrémités; ils sont nettement mobiles. Ils se colorent par les procédés habituels et se *décolorent* par la méthode de Gram.

Cultures. — Ce microbe se cultive très bien sur les milieux ordinaires; il pousse facilement à la température de la chambre. Il meurt lorsqu'on le chauffe à 60° pendant cinq minutes; il résiste longtemps à la dessiccation.

(1) Haushalter, Note sur la D. aviaire ; ses rapports avec la D. humaine (*Revue méd. de l'Est*, 1891, p. 289).

(2) Loir et Ducloux, Contrib. à l'étude de la D. aviaire en Tunisie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 599).

Culture sur gélatine. — Vers 18°, il donne une culture blanche, nacrée, un peu translucide; la gelée n'est pas liquéfiée.

Culture sur gélose. — Il forme une bande lisse, d'un blanc grisâtre.

Culture sur sérum. — Le développement est rapide à 37°; la culture ressemble à celle de gélose.

Culture sur pomme de terre. — A la température ordinaire, la culture est abondante, d'un blanc jaunâtre.

Culture dans le bouillon. — Le développement est rapide à 35°; le liquide se trouble uniformément.

Inoculation. — Le microbe est pathogène pour la poule, le pigeon, le canard, les petits oiseaux, le lapin; les cobayes et les bovidés paraissent réfractaires.

En *inoculation intraveineuse*, la mort survient en quelques jours, sans formation de fausses membranes ou avec fausses membranes dans la gorge.

En *inoculation intratrachéale*, la mort est aussi la règle, avec une grosse rale et beaucoup de fausses membranes.

En *inoculation sous-cutanée*, beaucoup d'animaux résistent, même avec 3 centimètres cubes de culture. Chez ceux qui guérissent comme chez ceux qui succombent, on n'observe jamais de réaction locale au point d'inoculation; la maladie se rapproche, par là, des septicémies hémorragiques, du choléra des poules par exemple, et s'éloigne de la diphtérie humaine.

Les poules qui ont résisté à une première atteinte de la maladie, à une inoculation de produits virulents, sont à l'abri de toute tentative d'inoculation, même d'une injection intraveineuse à dose massive; elles sont vaccinées.

Loir et Ducloux ont obtenu un vaccin actif en chauffant des cultures pendant une demi-heure à 55°. Un centimètre cube d'une telle culture, inoculé sous la peau de poules, leur donne simplement une légère augmentation de température et les met dans un état d'immunité relatif, qui est complété en inoculant comme deuxième vaccin 1 centimètre cube d'une culture vieille de deux mois; l'immunité est alors absolue.

Tous ces caractères démontrent avec évidence qu'il n'y a aucun rapport entre le microbe en question et le Bacille de la diphtérie humaine. Ce Bacille de la diphtérie aviaire peut cependant se développer chez l'homme et occasionner seul une pseudo-diphtérie à fausses membranes minces, peu adhérentes, comme le montre l'observation d'une angine grave, observée par Loir et Ducloux chez un enfant d'une ferme où sévissait la diphtérie aviaire; il peut aussi entrer en association avec le Bacille de Loeffler sans imprimer à la diphtérie de caractère spécial.

DIPHTÉRIE A PROTOZOAIRES

Davaine (1) a signalé la présence de Flagellés dans des fausses mem-

(1) Davaine, art. Monadines du *Dictionnaire encyclopédique* de Dechambre.

branes diphtériques des volailles. Babès et Puscariu (1) en ont retrouvé dans la diphtérie du pigeon, mais avec le Bacille spécial; leur forme les rapproche des *Trichomonas*. Pfeiffer (2) trouve des formes semblables dans les fausses membranes de la diphtérie du pigeon et admet l'existence d'une diphtérie à Flagellés. Mais dans ces expériences, on n'a pas recherché la présence des microbes qui occasionnent d'ordinaire les affections diphtériques chez les oiseaux; les Flagellés observés peuvent bien simplement accompagner le microbe dans les fausses membranes et n'être pour rien ou pas grand'chose dans le processus pseudo-diphtérique.

DIPHTÉRIE DU VEAU

La diphtérie du veau, très rare en France, est commune en Allemagne. Elle se caractérise par la production de fausses membranes sur la muqueuse buccale, dans la gorge, parfois dans le larynx et les fosses nasales. L'animal est très abattu, a du jetage et de la diarrhée. La mort est la règle; elle survient en quelques jours ou en quelques semaines. A l'autopsie, on trouve des fausses membranes sur la muqueuse des voies respiratoires et dans l'intestin, des noyaux de pneumonie et un exsudat trouble dans la plèvre.

Damman (3) attribue la maladie à des Microcoques très abondants dans les fausses membranes. Loeffler (4) regarde comme spécifiques des bâtonnets dont la largeur est à peu près la moitié de celle du *Vibrion septique*; la longueur est de cinq à six fois la largeur. Ces bâtonnets sont presque toujours unis en longs filaments. Ils se rencontrent surtout dans les couches profondes de la fausse membrane. Loeffler n'a pas obtenu de cultures pures.

DIPHTÉRIE DE L'INTESTIN DU LAPIN

Ribbert (5) a étudié une diphtérie intestinale du lapin, sévissant sous forme épidémique.

Il en donne comme cause des bâtonnets immobiles de 3 à 4 μ de long sur 1 à 1,4 μ de large, ne *restant pas colorés* par la méthode de Gram. Ces Bactéries se trouvent non seulement dans les fausses membranes, mais dans tous les organes. Elles ne liquéfient pas la gélatine; sur gélatine et sur gélose, en strie, elles forment une bande blanche, brillante, légèrement nacrée; sur pomme de terre, une culture blanchâtre, aplatie, s'étendant lentement. Les cultures pures, en injection intraveineuse ou intrapéritonéale au lapin, amènent la mort en trois à quatorze jours, avec des symptômes septicémiques et pas de fausses membranes dans l'intestin. Des fausses membranes intestinales se produisent, si l'on inocule par la voie digestive.

(1) Voy. Cornil et Babès, Les Bactéries, II, 2e éd., p. 84.

(2) Pfeiffer, Beiträge zur Kenntniss der pathogenen Gregarinen (*Zeitschr. für Hygiene*, V, 1889, p. 363). — Die Protozoen als Krankheitserreger. Iéna, Fischer, 1890, p. 84).

(3) Damman, *Deutsche Zeitschr. für Thiermed.*, 1877.

(4) Loeffler, *loc. cit.*, p. 637.

(5) Ribbert, Ueber einen bei Kaninchen gefundenen pathogenen Spaltpilz; Bacillus der Darmdiphterie der Kaninchen (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1887, n° 8).

DIPHTÉRIES CHEZ D'AUTRES ANIMAUX

On a décrit une diphtérie du mouton, sévissant surtout sur les jeunes agneaux, où souvent on observe du croup. D'anciennes observations cliniques semblent démontrer que l'affection peut se transmettre à l'homme.

Les diphtéries du chat et de la vache, qui peuvent contagionner l'homme, sont probablement des vraies diphtéries à Bacilles de Loeffler, de provenance humaine.

On connaît des affections diphtériques chez le porc, les équidés; l'étude bactériologique n'en a pas encore été faite.

J'ai observé un cas de diphtérie chez un chien courant. Il existait dans la gorge des fausses membranes grisâtres, montrant à l'examen microscopique de très nombreuses formes spirillaires; les essais de culture n'ont rien donné. La maladie a pris rapidement une allure grave et s'est terminée par la mort au bout de quelques jours.

La vache pourrait prendre la diphtérie de l'homme et son lait, dans certains cas au moins, être virulent (Klein). On connaît un certain nombre d'observations cliniques qui paraissent indiquer une transmission de diphtérie à l'homme ou à des animaux réceptifs (chat) par l'usage de lait provenant de vaches suspectes d'affections diphtériques.

BACILLUS SEPTICUS Pasteur.

(*Vibrion septique; Bacille de l'œdème malin.*)

ATLAS DE MICROBIOLOGIE, PL. XVI.

Cette espèce, très répandue dans la nature, qui avait été entrevue par Coze et Feltz (1) dans leurs études sur la septicémie, a été isolée et obtenue en cultures pures par Pasteur (2). Il l'a retirée de la terre végétale où il recherchait des *Bactéries charbonneuses*, en opérant de la façon suivante : La terre suspecte, triturée avec de l'eau, est lévigée avec soin. Le liquide est abandonné de manière à en séparer les particules les plus lourdes, puis décanté. L'eau trouble est ensuite laissée en repos absolu; il se dépose un sédiment léger. Ce dépôt recueilli est légèrement acidulé, puis chauffé quelques minutes à 90 degrés. Le chauffage a pour but de tuer la plupart des Bactéries ou leurs spores qu'il contient. Le dépôt injecté sous la peau de cobayes les fait parfois périr d'une affection charbonneuse reconnaissable à ses caractères. Plus souvent l'animal meurt avec des symptômes tout à fait spéciaux, ceux d'une septicémie à marche très rapide, occasionnant la mort de vingt-quatre à trente-six heures d'ordinaire. Les lésions peuvent être considérables. Au lieu d'inoculation s'est développé un œdème qui a pu prendre de grandes proportions et s'étendre dans les régions voisines; le tissu conjonctif est emphysémateux; il renferme en certains endroits, aux aisselles ou aux aines surtout, de véritables poches gazeuses. Le foie et les poumons sont pâles; la rate est diffluente. Cette terrible affection est due à la pullulation dans l'organisme d'une Bac-

(1) Coze et Feltz, Rech. clin. et expér. sur les mal. infectieuses, 1872.
(2) Pasteur, Sur le Vibrion septique (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1887).

térie en bâtonnets dont les spores étaient contenues dans la terre employée, et à laquelle Pasteur a donné le nom de *Vibrion septique*, qui, devenant *Bacillus septicus*, doit être conservé de préférence aux autres, vu son droit incontestable de priorité. L'affection est d'ordinaire désignée sous le nom de *Septicémie de Pasteur*. Koch (1) a attribué à la maladie le nom d'*œdème malin*, d'où la dénomination de *Bacille de l'œdème malin* (Bacillus des malignen-Œdems, Œdem-Bacillus) employée par les auteurs allemands.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — On trouve ces bâtonnets en quantité dans la sérosité de l'œdème ; ils sont très nombreux également dans le suc musculaire et l'exsudat péritonéal. Ils sont plus difficiles à apercevoir dans le sang, où ils peuvent être rares et disposés en longs filaments flexueux ; quelque temps après la mort, le nombre en a beaucoup augmenté. On obtient de très belles préparations avec la sérosité péritonéale de cobayes ayant succombé aux inoculations.

Les Bactéries de la sérosité de l'œdème mesurent en moyenne 3 μ de long, sur 1 μ de large et sont isolées ou réunies par deux ou plus



Fig. 240. — Sang de cobaye avec des éléments de *Vibrion septique* en courts articles ou en longs filaments. 900/1.

en chaînes (fig. 240) ; elles présentent des mouvements bien évidents. Celles qui se trouvent dans le sang surtout peuvent former des filaments de 15 μ à 40 μ de longueur où les articulations sont peu visibles, parfois ondulés, pouvant même rappeler des formes spirillaires ; le mouvement des filaments est plus lent, flexueux. Les extrémités des éléments sont nettement arrondies ou coupées net et ne présentent

(1) Koch, Zur Aetiologie des Milzbrandes (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881, p. 53).

jamais l'aspect particulier, bien caractéristique, des extrémités des articles du *Bacillus anthracis* (Voy. p. 483). Cet aspect et la présence de mouvements permettent d'établir une distinction entre ces deux espèces à l'aide de l'examen microscopique; il faut cependant se souvenir que, dans les préparations ordinaires, les mouvements du *Vibrion septique* cessent rapidement en présence de l'air.



Fig. 241. — Formation de spores chez le *Vibrion septique* (d'après Roux).

Les mouvements sont dus à la présence, sur les côtés des éléments, de cils vibratiles que les méthodes spéciales de coloration peuvent mettre en évidence; ces cils, assez longs, sont en assez grand nombre et disposés sur toute la surface du bâtonnet.

Dans les articles séparés, il se forme fréquemment des spores; on n'en observe pas dans les filaments, ce qui distingue encore cette espèce du *Bacillus anthracis*. Les articles qui vont sporuler se renflent en un point: c'est tantôt au milieu, le bâtonnet prend la forme de fuseau ; tantôt à une extrémité, il prend la forme d'une massue ou d'un têtard. A l'endroit où s'est produit le renflement, apparaît une tache claire qui devient une spore ovoïde, fortement réfringente, de couleur bleuâtre (fig. 241). Les dimensions de ces spores sont variables; elles sont souvent plus grosses que les bâtonnets où elles se forment.

Le microbe que Novy (1) a décrit sous le nom de *Bacillus œdematis maligni II* semble n'être qu'une variété ne donnant pas de spores.

Coloration. — Les bâtonnets du *Vibrion septique*, pris dans le sang, les sérosités des animaux ou dans des cultures jeunes, se colorent aisément aux procédés habituels. Ils se *décolorent* souvent par la méthode de Gram; Kutscher fait toutefois remarquer qu'ils peuvent rester colorés si on laisse l'action du colorant se prolonger pendant vingt-

(1) Novy, Ein neuer Bacillus des malignen-Œdems (*Zeitschr. für Hygiene*, XVII 1894, p. 209).

quatre heures au moins, ou qu'on use d'un bain composé d'eau anilinée, additionnée de 5 p. 100 d'alcool et d'acide phénique, mélangée à volume égal de solution de violet de gentiane, et qu'on laisse les préparations un quart d'heure dans ce bain. D'après Claudius, le *Vibrion septique reste coloré* par sa méthode de coloration (Voy. p. 302).

Les spores se colorent bien par les procédés spéciaux habituels.

Cultures. — Les cultures sont assez difficiles à réussir. Le *Bacillus septicus* est un anaérobie vrai et exige pour végéter un milieu dépourvu de toutes traces d'oxygène. La présence de ce gaz tue rapidement les cellules végétatives, en les empêchant même de sporuler. Les spores, par contre, peuvent être impunément exposées à l'air, mais ne germent qu'en l'absence d'oxygène. La culture doit donc se faire dans le vide ou dans un gaz inerte, l'azote ou l'hydrogène par exemple, ou mieux l'acide carbonique d'après Gaffky (1).

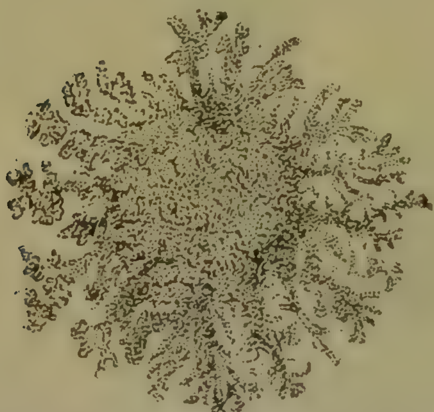


Fig. 242. — *Bacillus septicus*. Colonie isolée dans la gélose. 80/1 (d'après Liborius).

Nous renvoyons à l'article spécial de la culture des espèces anaérobies (p. 234).

En tenant compte de ces exigences particulières, on est arrivé à faire croître le *Vibrion septique* sur les différents milieux usités.

Pasteur a donné les caractères des cultures sur bouillon; Liborius (2), Roux (3), San Felice (4), ceux des cultures sur milieux solides.

Ces cultures se font lentement à la température ordinaire, pas au-dessous de 15° cependant, et beaucoup plus vite à 37°; dans ce dernier cas, on y peut déjà trouver des spores dès la fin du premier jour. Les bâtonnets des cultures ne restent jamais associés en aussi longs filaments que ceux du sang.

Cultures dans le bouillon. — Dans le bouillon à 37°, le développement est rapide; de douze à vingt-quatre heures, le liquide est trouble; il se dégage de l'acide carbonique et de l'hydrogène à volumes sensiblement égaux, et, d'après Pasteur, une légère odeur fétide; la réaction du milieu ne change pas. Le bouillon s'éclaircit assez vite : il se forme au fond du vase un dépôt léger. Beaucoup de bâtonnets ont produit des spores.

Cultures dans la gélose. — En cultures dans la gélose, que l'on solidifie en couche mince sur les parois d'un tube large ou sur des plaques de gélose mises à l'abri de l'air, on aperçoit les colonies à l'œil nu comme de petites taches nuageuses blanchâtres, à bords plus nets, se perdant dans la gelée. A un grossissement de 80 à 100 diamètres, on

(1) Gaffky, Experimentell erzeugte Septikämie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und accomodative Züchtung (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881, p. 83).

(2) Liborius, Beiträge zur Kenntniss der Sauerstoffbedürfnisses der Bacterien (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 1re p., p. 115, 1886).

(3) Roux, Sur la culture des microbes anaérobies (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 49).

(4) San Felice, Untersuch. über anaërobe Mikroorganismen (*Zeitschr. für Hygiene*, XIV, 1893, p. 339).

reconnaît à la colonie une partie centrale homogène d'où partent de nombreuses arborisations se perdant dans la gelée ambiante (fig. 242). Le tube doit être naturellement rempli d'hydrogène ou d'acide carbonique et les plaques faites dans une semblable atmosphère.



Fig. 243. — Culture dans la gélose (d'après Liborius).

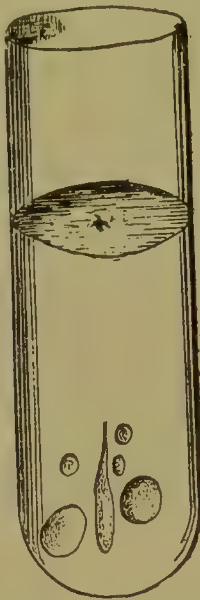


Fig. 244. — Culture de *Bacillus septicus* dans la gélatine.



Fig. 245. — Culture plus âgée dans la gélatine.

On peut arriver à obtenir des cultures en tube par un procédé plus simple, que nous avons indiqué page 236. En faisant pénétrer la matière d'inoculation jusqu'au fond du tube, on parvient, en favorisant la prise de la gelée dans les couches supérieures, à soustraire les parties profondes de la masse à l'action de l'oxygène. S'il y reste des spores, elles pourront germer, trouvant les conditions nécessaires. Mais encore à la condition d'avoir privé le milieu d'air en le soumettant à une ébullition préalable, des colonies ne se formeront qu'à une assez grande distance de la surface, 3 centimètres à peu près, à l'endroit où l'oxygène ne pourra plus pénétrer par diffusion. La réussite est plus sûre si l'on fait l'ensemencement dans la gelée bouillie et ensuite refroidie dans une atmosphère d'acide carbonique et qu'on verse, après l'opération, une couche d'huile stérilisée de 1 ou 2 centimètres de hauteur, qui empêche encore l'action de l'air. Dans ces conditions, il sera possible d'observer le développement dans presque toute la hauteur du milieu. On use plus commodément des appareils de Roux, décrits page 238.

Dans la gélose ainsi préparée et ensemencée, il se produit de petits nuages très légers déjà visibles à l'œil nu en vingt-quatre heures à 20° (fig. 243) qui montrent un fin réticulum, rappelant celui représenté plus haut figure 242. La gelée se fend souvent à l'endroit des colonies, par suite du dégagement de produits gazeux (fig. 246).

En *strie*, sur gélose, d'après Votteler (1), il se forme une culture blanche à bords très déchiquetés et même ramifiés.

(1) Votteler, Ueber die Differenzial diagnose der pathogenen Anaëroben durch die Kultur auf Schrägagar und durch ihre Geisseln (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVII, 1898, p. 480).

Cultures sur gélatine. — Dans un tube de gélatine préparé comme nous venons de l'indiquer pour la gélose, ou sur des plaques convenablement disposées, on observe, au bout de deux ou trois jours, à 20°, de petites sphères de 1/2 à 1 millimètre de diamètre, pleines de liquide clair, qui se forment surtout dans la partie inférieure du tube (fig. 244 et 247) ou dans la couche de gelée. Le liquide, très clair au début, se trouble et montre à la périphérie une fine striation radiaire, ou de légères arborisations, bien visibles à un faible grossissement (fig. 245). Dans ces sphérules de substance liquéfiée, il se forme de petites bulles de gaz le long de la piqûre, et de petites colonies éparses dans la gelée. Il peut se former dans le fond du tube une grosse collection de liquide trouble qui tranche très nettement sur les couches de gelée sous-jacentes, restées transparentes.



Fig. 246. — Culture du *Vibrion septique* dans la gélose, après 24 heures, à 37° (d'après Fraenkel et Pfeiffer).

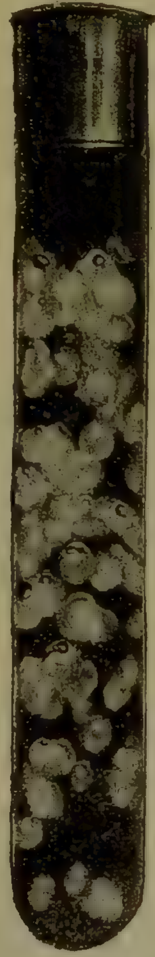


Fig. 247. — Culture de *Vibrion septique* dans la gélatine glucosée (d'après Fraenkel et Pfeiffer).

Cultures sur pommes de terre. — Gaffky (1) aurait obtenu des cultures sur pommes de terre. D'après lui, les Bacilles pénètrent profondément dans la substance de la pomme de terre et y forment un réseau à mailles serrées ; il ne se produit pas de culture apparente.

(1) Gaffky, Experimentell erzeugte Septicaemie (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881, p. 80).

Cultures sur sérum. — Le sérum solide est rapidement liquéfié.

Cultures dans le lait. — Le microbe se développe abondamment dans le lait : il détermine la précipitation d'une petite partie de la caséine.

Propriétés biologiques.

Vitalité et virulence. — La vitalité et la virulence se conservent longtemps intactes grâce à la présence de spores. C'est aussi aux spores qu'est due la très grande résistance aux antiseptiques, particulièrement à la chaleur ; les spores résistent facilement à une température de 80° et peuvent, dans certaines conditions, supporter sans périr des températures supérieures à 100°. Desséchées, elles gardent très longtemps leur vitalité ; elles ne sont pas tuées, après cinquante heures d'insolation. Les bâtonnets non sporulés périssent vite à une température de 60 degrés.

Grâce à la présence de spores, les cultures conservent très longtemps leur virulence ; mais il devient alors nécessaire, avant de s'en servir pour une inoculation, de faire une nouvelle culture, l'inoculation de spores seules pouvant fort bien ne donner aucun résultat.

La virulence s'exalte facilement par des passages successifs chez le cobaye.

Produits formés dans les cultures. — Roux et Chamberland (1) ont démontré l'existence d'un *poison septique* produit par le *Vibrion septique* dans les bouillons où on le cultive et dans l'organisme animal qu'il a envahi. En injectant dans le péritoine, à un cobaye, une forte dose, 40 centimètres cubes par exemple, de la sérosité s'écoulant des muscles et du tissu cellulaire de cobayes morts de la septicémie de Pasteur, sérosité filtrée sur bougie Chamberland pour éliminer les microbes, on voit se dérouler rapidement les symptômes particuliers de la septicémie à marche aiguë ; l'animal a le poil hérissé, chancelle sur ses pattes, est agité de secousses convulsives, tombe sur le flanc et meurt en quelques heures. Avec les produits de cultures, l'effet est en tout semblable si l'on met en œuvre certains procédés. Les cultures en bouillon ordinaire, après filtration, sont peu actives ; il en faut de très fortes doses pour tuer un cobaye. Besson (2) conseille, pour obtenir un produit actif, de prendre du bouillon peptonisé à 8 ou 10 p. 100, ou mieux de faire des cultures sur viande hachée d'après un procédé de Roux. Voici la méthode d'après Besson : Dans un flacon de 1 200 à 1 500 centimètres cubes de capacité, on met 500 grammes de viande de bœuf hachée et quelques centimètres cubes d'une solution de soude à 1 p. 100 ; le flacon, bouché à l'ouate, est porté à l'autoclave à 115° pendant vingt minutes. Après refroidissement, on ensemence avec un peu de sérosité prise sur un cobaye mort de septicémie. Au bouchon d'ouate, on substitue un bouchon de caoutchouc stérilisé portant deux tubes coudés, disposés comme ceux d'une pissette, le tube plongeant fermé à son extrémité libre. On fait le vide en reliant le tube ouvert à la trompe et on le ferme à la lampe. On porte l'appareil à l'étuve à 37°. Au bout d'une vingtaine d'heures, de nombreuses

(1) Roux et Chamberland, Immunité contre la septicémie conférée par des substances solubles (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 561).

(2) Besson, Contrib. à l'étude du Vibrion septique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 179).

bulles de gaz viennent crever à la surface, la viande prend une teinte rose vif caractéristique et il tend à se former deux couches : dans un liquide trouble et rougeâtre baigne une masse semi-solide, crevassée, irrégulière. Vers la fin du deuxième jour, il est utile de casser avec une pince l'extrémité du tube que l'on a fermée au chalumeau : les gaz dégagés par la culture s'échappent en sifflant ; la culture se poursuit, le flacon étant rempli, à la pression atmosphérique, par l'acide carbonique et l'hydrogène dégagés par la fermentation. Le maximum de toxicité des cultures se rencontre vers le sixième jour, puis l'activité baisse. On recueille le liquide et on le filtre sur bougie Chamberland. Trois ou quatre centimètres cubes de la toxine ainsi obtenue déterminent, en injection intrapéritonéale chez le cobaye de 450 à 600 grammes, une affection passagère dont tous les symptômes rappellent les phénomènes terminaux de la septicémie, mais qui guérit rapidement. Une dose inférieure à 2 centimètres cubes ne donne rien. L'injection de doses comprises entre 5 et 10 centimètres cubes tue rapidement les cobayes de 300 à 400 grammes. Des doses analogues ou plus considérables ne produisent guère qu'une réaction locale, œdème ou escarre. Des petites doses, plusieurs fois répétées, déterminent une intoxication chronique, de la cachexie.

Cette toxine possède des propriétés chimiotactiques négatives. Le chauffage à 85° pendant deux à trois heures diminue notablement son activité ; ses propriétés chimiotactiques deviennent positives.

On ne peut encore émettre aucune opinion sur la nature de la substance toxique.

Le Vibrion septique attaque énergiquement les matières hydrocarbonées et les matières azotées. Parmi les premières, l'amidon et la dextrine sont le plus rapidement attaqués, comme l'a montré Arloing ; les sucres ne viennent qu'après. Il se produit une forte quantité de gaz, composés surtout d'hydrogène et d'acide carbonique. Dans de vieilles fermentations de glucose, Linossier a rencontré des alcools éthylique et butylique normal, des acides formique, acétique, butyrique, paralactique et des traces d'acide succinique.

D'après Kerry (1), cette Bactérie décompose l'albumine en donnant les produits ordinaires des putréfactions, acides gras, leucine, acide hydro-paracoumarique ; pas d'indol ni de scatol, mais une huile excessivement puante qui forme surtout par oxydation de l'acide valérianique.

Inoculation expérimentale.

Les animaux les plus sensibles à l'inoculation du *Vibrion septique* sont, à peu près par ordre de réceptivité décroissante, le lapin, le rat blanc, la souris, le chat, le mouton, la chèvre et le cheval. L'âne, la poule, le pigeon, sont moins sensibles ; le chien moins encore : ils ne présentent le plus souvent qu'une lésion locale. Le bœuf est réfractaire aux inoculations expérimentales, d'après Chauveau et Arloing, bien que, d'après Nocard, il puisse naturellement contracter la septicémie spéciale ; le rat d'égout est au moins très résistant.

(1) Kerry, Ueber die Zersetzung der Eiweise durch die Bacillen des malignen Oedem (*Wiener Monatsh. für Chemie*, X, 1889, n° 10).

Pour réussir une inoculation sous-cutanée, il est nécessaire de la faire assez profonde; une simple scarification ou excision de la peau ne suffit pas. C'est un fait probablement en rapport avec le caractère anaérobie strict du microbe.

Le *cobaye* est l'animal de choix. Une très petite quantité, une fraction de goutte, inoculée sous la peau, le tue sûrement ; avec certains virus très actifs, Davaine avait déjà remarqué qu'il suffisait d'un millionième de goutte pour occasionner la mort. Les symptômes qu'il présente sont assez caractéristiques. Peu d'heures après l'inoculation, l'animal se blottit en boule dans un coin, reste immobile. Son poil se hérisse ; dès qu'on le touche, il pousse des cris aigus ; le corps est agité de temps en temps de secousses convulsives. La mort survient vite, souvent douze heures après l'inoculation. On trouve à l'autopsie des désordres considérables, très bien décrits par Pasteur. Au lieu d'inoculation, s'est développé un œdème qui a pu prendre de grandes proportions ; les muscles voisins, ceux de l'abdomen et des membres, sont d'un rouge noirâtre ; le tissu conjonctif est emphysémateux, il existe des poches de gaz aux aisselles et aux aines ; le foie et les poumons sont décolorés, la rate un peu plus foncée que d'ordinaire, diffluente ; le péritoine renferme une sérosité abondante ; le cadavre dégage une odeur putride assez particulière.

Aussitôt après la mort, la sérosité de l'œdème, le suc musculaire, la sérosité péritonéale, renferment en grande abondance le *Vibrion septique*, sous forme de bâtonnets isolés ou de filaments souvent longs et flexueux. Le sang n'en contient encore que peu ; ce n'est guère que vingt-quatre heures après qu'ils y abondent.

L'examen de ces liquides à l'état naturel est d'un haut intérêt : il permet de constater la grande mobilité du microbe, surtout des filaments que l'on distingue « rampants, flexueux, écartant les globules du sang comme un serpent écarte l'herbe dans les buissons » (Pasteur). Le mouvement est doux, ondoyant, laissant une impression bien particulière. La sérosité de l'œdème ne renferme pas de leucocytes. On n'y trouve jamais de spores pendant la vie, le *Vibrion septique* n'en forme pas dans l'organisme vivant. Elles n'apparaissent que quelques heures après la mort ; on en trouve surtout dans les organes profonds laissés quelque temps à 35 degrés.

Une particularité très intéressante à connaître, déjà notée pour le *Bacille du tétanos*, mise en lumière par Besson, est que les spores du *Vibrion septique*, pures, privées de toxine par lavage ou chauffage à 80°, ne se développent pas dans les tissus vivants et sains ; elles peuvent être injectées en quantité considérable à des cobayes et des lapins sans occasionner d'accidents. Il se produit, au point d'inoculation, un afflux considérable de leucocytes et une phagocytose énergique ; la plupart de ces leucocytes renferment des spores colorables par la solution de Ziehl. Ces spores ingérées doivent être détruites, puisqu'on n'observe pas les accidents dus à l'infection par le Vibrion.

Cependant, si l'on dépasse la limite de l'activité phagocytaire en injectant une dose de spores telle que les leucocytes ne puissent pas les absorber toutes, il en est qui restent aptes à se développer, la septicémie se déclare. Cette dose, variable suivant les individus, dépend du nombre des phagocytes que l'animal peut envoyer au lieu de l'inoculation.

Lorsqu'on protège les spores contre l'action phagocytaire, d'autre part, elles peuvent germer et provoquer l'infection. On y parvient, par exemple, en introduisant avec elles des substances douées de chimiotaxie négative, empêchant l'émigration leucocytaire. L'acide lactique a des propriétés chimiotactiques négatives énergiques; un cobaye qui supporte sans accidents l'injection de deux à trois millions de spores pures succombe sûrement à l'inoculation d'une centaine de spores délayées dans un peu d'eau additionnée d'une goutte d'acide lactique. On arrive à des résultats semblables en ajoutant aux spores une faible quantité de toxine septique, douée aussi, comme nous l'avons vu, de chimiotaxie négative. Différents microbes saprophytes, ou leurs produits solubles, agissent dans le même sens. Parmi ces microbes, le *Micrococcus prodigiosus* et le *Staphylocoque doré*, extrait récemment de l'organisme, sont des plus actifs; c'est probablement à la présence de tels microbes favorisants, à côté de spores du *Vibrion septique*, que la terre détermine si facilement l'infection septique.

Immunité.

Roux et Chamberland (1) ont réussi à conférer à des cobayes une immunité absolue pour les virus les plus énergiques, en leur injectant dans la cavité abdominale, à plusieurs reprises, de fortes doses de cultures achevées, sûrement privées de tout élément vivant par un chauffage de 105-110° pendant dix minutes. Les animaux éprouvent de légers malaises, leur poil se hérisse, mais ils reviennent vite à l'état normal. Pour les vacciner sûrement, il est nécessaire d'injecter au moins 120 centimètres cubes de bouillon de culture, de six à huit jours, en trois reprises en trois jours successifs. Ainsi préparés, ils résistent à des doses de virus actif qui tuent rapidement des animaux témoins.

On peut arriver aux mêmes résultats en se servant de sérosité septique filtrée sur porcelaine : en injectant 1 centimètre cube de cette sérosité, et en faisant sept ou huit injections successives, on arrive à conférer rapidement l'immunité complète. Chez tous ces cobayes, même ceux qui sont morts à la suite d'injection de trop fortes doses de sérosité, ni l'examen microscopique, ni les cultures ne parviennent à déceler la présence du *Vibrion septique*.

Habitat et rôle étiologique.

L'aire d'extension de l'espèce est très grande. On la rencontre pour ainsi dire dans toutes les substances pourries; mais en grande abondance surtout dans les putréfactions qui se font à l'abri de l'air. Elle est commune dans la terre végétale, principalement terre de jardins, de rues, champs fumés ; c'est surtout à la présence de ces spores dans de la terre que sont dues souvent les complications gangreneuses, presque toujours fatales, observées fréquemment dans les plaies où ont pénétré de la terre ou des substances pourries. Sur dix cobayes, inoculés comme il a été dit précédemment avec la terre de jardin ou la boue de rue, huit meurent de

(1) Roux et Chamberland, Immunité contre la septicémie conférée par des substances solubles (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, n° 12, p. 561).

septicémie de Pasteur, deux périssent du tétanos. Les résultats peuvent être moins complets ; une partie des animaux inoculés peut survivre. La terre des couches profondes est moins active à mesure qu'on s'éloigne de la surface. Lortet, Arloing, G. Roux, l'ont mis en évidence dans les limons et vases de différentes eaux, mêmes d'eaux potables. C'est peut-être sa présence en grande abondance dans les conserves végétales ou animales qui occasionnait les accidents rapidement mortels, observés par Poincaré (1) à la suite d'injections sous-cutanées de petites quantités de ces substances. L'ingestion par voie intestinale n'amène pas d'accidents à cause de la barrière opposée par les épithéliums qui sont intacts, et peut-être à cause de l'absence de spores, les cellules végétatives étant tuées par les sucs gastriques. C'est la cause qui préserve l'organisme de cet hôte dangereux qui doit certainement exister dans le contenu intestinal à l'état normal, bien qu'il n'en ait pas encore été isolé ; on le retrouve en effet si souvent dans tout le corps peu de temps après la mort qu'on est conduit à admettre sa présence dans l'intestin et sa pénétration dans l'organisme dès que la mort des cellules permet son envahissement. Les inoculations expérimentales et les cultures démontrent du reste sa présence dans les selles humaines et animales.

La septicémie due à cette espèce s'observe assez fréquemment chez l'homme. Il est prouvé que les terribles affections connues sous les noms de *septicémie gangreneuse* ou de *gangrène gazeuse* sont dues en partie au *Vibrion septique*, en partie à des espèces plus ou moins voisines dont il sera parlé ci-après (p. 653).

S'il n'occasionne pas plus souvent de complication des plaies, c'est qu'étant anaérobie exclusif il ne peut pas vivre à la surface des tissus, mais seulement dans leur profondeur.

Une partie des cas de l'affection complexe connue sous le nom de *maladie des chiffonniers* (Hadernkrankheit) et de ces septicémies spéciales qu'on pourrait grouper sous le nom de *septicémies professionnelles*, sont dus à cette Bactérie pathogène ; Krannhals (2) l'a rencontrée exclusivement dans plusieurs cas de la première de ces manifestations morbides.

Recherche et diagnostic.

Dans la terre, les dépôts, les substances putréfiées où se trouvent un grand nombre de Bactéries, l'inoculation au cobaye, au besoin à l'aide de la méthode de chauffage de Pasteur, donne les meilleurs résultats.

Pour le sang, les sérosités diverses, l'examen microscopique et les cultures peuvent très bien renseigner. Les longs filaments mobiles, à mouvements ondoyants, sont un indice précieux, lorsqu'on peut les observer mobiles, car leur motilité disparaît vite au contact de l'air. La forme arrondie des extrémités des bâtonnets, leur décoloration par la méthode de Gram, leurs mouvements lorsqu'on peut les constater, les font distinguer aisément des *Bactéridies charbonneuses* ; les cultures à l'air donnent du reste des résultats pour ces derniers microbes. La décoloration facile par la méthode de Gram permet de les distinguer du

(1) Poincaré, Rech. expér. sur l'action toxique des conserves (*Revue d'hygiène*, février 1888).

(2) Krannhals, Zur Casuistik und Aetiologie der Hadernkrankheit (*Zeitschr. für Hygiene*, II, 2e p., p. 297, 1887).

Bacille du charbon symptomatique, qui reste coloré et en outre n'est pas pathogène, dans les conditions ordinaires, pour le lapin et la souris, que tue rapidement le *Vibrion septique*.

Liborius (1) a isolé de la terre de jardin, par inoculation à des souris, une Bactérie semblable au *Vibrion septique*, à laquelle il a attribué le nom de *Pseudo-œdembacillus*, dont on peut faire le terme plus régulier de *Bacillus pseudo-septicus*.

C'est une Bactérie anaérobie vraie comme le *Vibrion septique*. Liborius l'a obtenue en inoculant à des souris de la terre de jardin. Ces animaux meurent de septicémie, avec œdème gélatineux au point inoculé ; l'affection est déterminée par le *Vibrion septique* ou par une autre Bactérie, produisant des symptômes semblables, que l'on retrouve aussi dans la sérosité de l'œdème et dans le sang du cœur.

Les bâtonnets sont un peu plus épais que les éléments du *Vibrion septique*; ils présentent une auréole hyaline très nette : certains renferment une ou deux spores ovales.

On cultive facilement ce microbe en usant des procédés indiqués pour le Vibrion septique.

Dans la gélatine, on observe une liquéfaction rapide ; si l'on a ajouté du sucre au milieu, il se produit une fermentation énergique avec développement de gaz. Ces gaz ont une odeur de vieux fromage et renferment une forte proportion d'acide butyrique. Les colonies sont de petites sphères de 1 à 5 millimètres de diamètre, à contenu liquide, transparent, montrant dans la partie déclive un petit amas grumeleux blanchâtre et souvent à leur centre une bulle de gaz.

Sur gélose glucosée en strie, il se forme des colonies rondes, ovales ou allongées, à contours irréguliers. En piqûre, il se produit d'abord un trouble autour du canal, puis de nombreuses bulles de gaz qui déchirent la gelée.

Les souris et les lapins meurent rapidement, parfois au bout de quelques heures, ou même plus tôt, après l'inoculation sous-cutanée ou intraveineuse de petites quantités de culture. Les Bacilles peuvent être rares dans la rate et le sang du cœur.

C'est très probablement cette Bactérie que Bordoni-Uffreduzzi (2) a observée chez l'homme, dans un cas de septicémie ayant certaines allures du charbon, et à laquelle il a attribué le nom, très impropre d'ailleurs, de *Proteus hominis capsulatus*.

San Felice (3) dénomme *Bacillus pseudo-œdematis maligni* un Bacille aérobie qu'il a rencontré souvent dans la terre, les excréments, les substances putréfiées, avec le *Vibrion septique*, et qui donne, lorsqu'on l'inocule aux animaux d'expérience et particulièrement au cobaye, des symptômes très voisins de ceux de la septicémie de Pasteur.

Les éléments sont des bâtonnets mobiles à extrémités arrondies, de

(1) Liborius, *loc. cit.*, p. 644.

(2) Bordoni-Uffreduzzi, Ueber einen pathogenen Mikrophyten am Menschen und an den Thieren (*Centralbl. für Bakt.*, II, 1887).

(3) San Felice, Untersuchungen über anaërobe Mikroorganismen (*Zeitschr. für Hygiene*, XIV, 1893, p. 339).

0,7 μ de large et de longueur très variable; ceux des cultures ont de 1,5 μ à 2,5 μ de long; les filaments qui se trouvent dans la sérosité du cobaye atteignent jusqu'à 24 μ. Il ne paraît pas se former de spores; la simple dessiccation un peu prolongée ou une chaleur de 70° détruisent toute vitalité. Le microbe reste mal coloré par la méthode de Gram. On ne lui reconnaît pas de capsule.

On obtient facilement des cultures sur les milieux habituels, en présence de l'air. En culture sur plaques de gélatine, les colonies de la surface sont transparentes, irisées, parcourues de nombreux sillons; elles rappellent un peu celles du Bacille typhique. La gelée n'est pas liquéfiée. Sur gélatine et sur gélose, en piqûre, on observe un abondant développement de gaz et la production d'une odeur fétide. Sur pomme de terre, la culture est humide, grisâtre.

En inoculant sous la peau d'un cobaye 1 centimètre cube de bouillon de culture, l'animal meurt en vingt-quatre à trente-six heures.

On observe, au point d'inoculation, un œdème séro-sanguinolent et une rougeur des muscles, comme avec le *Vibrion septique*; on rencontre aussi des poches gazeuses sous la peau et de petites bulles de gaz dans les tissus; les parties lésées dégagent une odeur désagréable, qui permet, avec un peu d'habitude, de distinguer les animaux morts de cette septicémie de ceux qui ont succombé au *Vibrion septique*.

Le microbe paraît bien commun dans la terre de jardin, dans la poussière de rue ou de maison. Sur vingt animaux, cobayes et lapins, inoculés avec ces poussières, San Felice en a vu mourir treize de la septicémie occasionnée par lui.

C'est encore une espèce qui doit bien probablement se rencontrer chez l'homme, où l'on ne connaît que très imparfaitement la nature des processus septicémiques, très fréquents cependant, surtout avant l'emploi des méthodes d'antisepsie des plaies.

Chavigny (1) l'a observé dans un cas de *gangrène gazeuse* subaiguë, venant compliquer une fracture sans plaie cutanée; il suppose qu'il y a pu avoir auto-infection.

San Felice le donne aussi comme commun dans les excréments des carnivores et des herbivores; tous les cobayes, inoculés avec des excréments de chien en particulier, ont succombé à cette septicémie.

E. Fraenkel (2) a trouvé, dans quatre cas de phlegmons accompagnés de production de gaz, un Bacille anaérobie, se différenciant facilement du Vibrion septique.

Morphologiquement, il ressemble assez au *Bacille du charbon* et est aussi tout à fait immobile. Il ne forme pas de spores.

Il se colore bien aux couleurs d'aniline et conserve très bien la coloration par la méthode de Gram.

C'est un anaérobie strict, poussant facilement sur plaques dans une atmosphère d'hydrogène et sur gélose glucosée à l'abri de l'air. Le développement se fait au mieux dans le bouillon glucosé additionné d'un peu de formiate de soude.

(1) Chavigny, Gangrène gazeuse subaiguë produite par un Bacille spécial (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1877, p. 860).

(2) E. Fraenkel, Ueber die Aetiologie der Gasphlegmonen (Phlegmone emphytematosa) (*Centralbl. für Bakt.*, XIII, 1893, p. 13).

En injection sous-cutanée au cobaye, la culture dans le bouillon détermine rapidement au point d'inoculation un gros phlegmon emphysémateux; l'enflure s'étend sur la plus grande partie du corps; l'animal meurt vite, en vingt-quatre à quarante-huit heures. La sérosité de l'énorme œdème contient un très grand nombre de Bacilles.

C'est probablement ce même microbe que Veillon et Zuber (1) ont trouvé dans l'intestin dans plusieurs cas d'appendicite et ont nommé *Bacillus perfringens* et Guillemot (2) dans un cas de gangrène gazeuse.

BACILLUS TETANI Nicolaier.

(*Bacille du tétanos, Bacille de Nicolaier.*)

Atlas de microbiologie, pl. xvii.

L'opinion de la contagiosité du tétanos est ancienne ; elle s'appuyait surtout sur l'observation de véritables épidémies de cette affection. Elle a été reprise récemment et brillamment soutenue par Verneuil (3), qui n'hésite pas à affirmer que le tétanos n'est jamais spontané, mais provient toujours de la pénétration de matière infectieuse par une solution de continuité traumatique, extérieure ou intérieure.

Carle et Rattone (4) ont fourni les premiers la preuve expérimentale de la contagiosité du tétanos, en inoculant à des lapins du suc d'un œdème pris sur un individu atteint de tétanos ; ils obtinrent des cas de tétanos typique chez presque tous ces animaux. Des recherches très intéressantes de Nicolaier (5) ont montré que l'inoculation sous-cutanée de terre prise dans les champs, les jardins, les rues, déterminait, chez les souris, les lapins, les cochons d'Inde, tantôt la septicémie du *Vibrion septique*, tantôt un tétanos véritable. Dans ce dernier cas, au bout d'un jour ou deux après l'opération, il se produit des contractures des membres, de l'opisthotonos souvent très prononcé, du trismus des mâchoires. La dyspnée survient, puis peu après la mort, au troisième jour chez les souris, du cinquième au septième chez les cobayes et les lapins. A l'autopsie, on ne rencontre rien de spécial, sauf une minime collection purulente au point d'inoculation.

Dans ce pus, Nicolaier a trouvé de fins Bacilles, un peu plus longs et à peu près aussi gros que ceux de la septicémie de la souris, se colorant très bien aux couleurs d'aniline, dont beaucoup se terminent par une spore ovale, brillante, plus grosse que le bâtonnet où elle s'est formée. Il n'a pas été possible à cet observateur d'obtenir de cultures pures ; il y avait toujours, mélangées à la première espèce, d'autres Bactéries de putréfaction. Le développement ne s'est fait ni sur gélatine, ni sur

(1) Veillon et Zuber, Rech. sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle en pathologie (*Arch. de méd. expér.*, 1898).

(2) Guillemot, Sur un cas de gangrène gazeuse due à un microbe anaérobie différent du Vibrion septique (*Soc. de Biol.*, 5 novembre 1898).

(3) Verneuil, De la non-existence du T. spontané (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 3 octobre 1887), et Études sur la nature, l'origine et la pathogénie du T. (*Revue de chir.*, 1887 et 1888).

(4) Carle et Rattone, Studio sperimentale sull'etiologie del T. (*Acc. di medicina di Torino*, mars 1884).

(5) Nicolaier, Beiträge zur Aetiologie des Wundstarrkrampf. Dissert. inaug. Göttingue, 1885, et Ueber infectiösen T. (*Deutsche med. Wochenschr.*, 25 décembre 1884).

gélose. En strie sur du sérum solidifié, il ne se forme rien à la surface de la gelée à 87°, mais seulement de petits flocons blanchâtres dans l'excès de liquide rassemblé à la partie déclive du tube. Ces cultures sont virulentes et déterminent, chez les souris et les lapins, un tétanos rapidement mortel.

Rosenbach (1) a retrouvé ce même Bacille sur la plaie d'un homme mort de tétanos et a insisté le premier sur la forme bien spéciale, *en épingle*, que présentent les éléments sporifères ; il a pu déterminer cette affection chez des souris et des lapins en leur inoculant sous la peau des fragments de tissus pris à l'endroit malade. Il a signalé le premier ces Bacilles dans la moelle épinière. Des cultures ont également été obtenues, mais elles contenaient, comme celles de Nicolaier, plusieurs espèces. Leur inoculation a toujours causé un tétanos mortel aux animaux.

Hochsinger (2) annonce des résultats en tout semblables aux précédents.

Bonome (3) a observé, sur cinq cas de tétanos traumatique, trois chez l'homme, un chez le cheval et un chez le mouton, la présence constante du Bacille décrit comme pathogène par Nicolaier, facile à distinguer par son mode de formation de spores. Il lui donne une longueur double ou triple de celle du *Bacille de la tuberculose*; c'est très probablement des bâtonnets réunis en chaînes qu'il a aperçus. Ce Bacille n'a pu être obtenu en cultures pures ; d'autres espèces de putréfaction l'accompagnaient toujours. Les cultures transmettaient facilement l'affection. Bonome a également déterminé le développement du tétanos et l'apparition de cette même Bactérie en inoculant à des animaux des plâtras d'une église où furent ensevelis des individus morts du tétanos.

Lampiasi (4), Belfanti et Pescarolo (5) disent avoir obtenu en cultures pures, de sang ou de pus d'hommes ou d'animaux tétaniques, des Bactéries différentes du microbe signalé par Nicolaier, qui, inoculées aux animaux d'expériences, leur communiqueraient une sorte de tétanos. Ces données n'ont pas reçu de confirmation ultérieure.

Kitasato (6) fit faire un grand pas à la question en réussissant à obtenir des cultures pures du Bacille de Nicolaier et en déterminant un tétanos typique chez les rats, les souris et les cobayes, par inoculation de ces cultures.

Depuis, d'importants travaux sont venus confirmer et étendre les résultats signalés par ce dernier savant et mettre en lumière bien des points intéressants de l'histoire du tétanos. On doit surtout citer ceux de Verhoogen et Baert (7), de Sanchez-Toledo et Veillon (8), de

(1) Rosenbach, Zur Aetiologie des Wundstarrkrampfes beim Menschen (*Archiv für klin. Chir.*, XXXIV, 1886, p. 306).

(2) Hochsinger, Zur Aetiologie des menschlichen Wundstarrkrampfes (*Centralbl. für Bakt.*, II, 1882, nos 6 et 7).

(3) Bonome, Sur l'étiologie du T. (*Congrès de l'Assoc. méd. ital.*, 1887).

(4) Lampiasi, Ricerche sull' etiologia del Tetano (*Congresso della Soc. ital. di Chir.*, 26 marzo 1888).

(5) Belfanti et Pescarolo, *Giorn. dell'Accad. di med. di Torino*, juin 1888.

(6) Kitasato, Ueber den Tetanusbacillus (*Zeitschr. für Hygiene*, VII, 1889, p. 225).

(7) Verhoogen et Baert, Premières rech. sur la nature et l'étiologie du T. (*Soc. roy. des sc. nat. et méd. de Bruxelles*, 1888-1889).

(8) Sanchez-Toledo et Veillon, Rech. microbiol. et expér. sur le T. (*Arch. de méd. expér.*, II, 1890, p. 709).

Vaillard et Vincent (1), Vaillard et Rouget (2), Courmont et Doyon (3)

L'étude des propriétés biologiques du microbe, des produits qu'il forme dans les cultures, a donné lieu à des travaux de la plus haute importance qui ont conduit aux résultats que Behring, Kitasato, Roux et Vaillard ont obtenus sur la question de l'immunité et de la sérothérapie du tétanos.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — En examinant du pus ou de la sérosité d'une plaie tétanique, on y trouve des Bacilles assez longs et grêles, de 0,3 à 0,5 μ de large sur 3 à 5 μ de long, légèrement mobiles (fig. 248);



Fig. 248. — *Bacille du tétanos*, d'une jeune culture dans le bouillon. 1000/1.

ils forment souvent des filaments plus ou moins longs, parfois un peu ondulés. La motilité des Bacilles ou des filaments ne s'observe qu'en l'absence d'air; elle cesse quand l'air a pu diffuser dans la préparation. Les cultures jeunes montrent surtout des Bacilles courts; les plus âgées, des formes plus longues ou filamenteuses. Dans le pus et les cultures âgées d'au moins une huitaine de jours, lorsqu'elles sont maintenues vers 20°, ou après quelques jours à 37°, on rencontre souvent des éléments sporifères. Ils sont assez caractéristiques, bien qu'on puisse rencontrer des formes analogues chez d'autres espèces microbiennes, en particulier plusieurs espèces du sol, des excréments, etc. La spore, sphérique ou à peu près, se forme presque toujours à une extrémité d'un bâtonnet, rarement dans le corps de l'élément. Elle est notablement

(1) Vaillard et Vincent, Contribution à l'étude du T. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V, 1891, fasc. 1).

(2) Vaillard et Rouget, Note au sujet de l'étiologie du T. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 755).

(3) Courmont et Doyon, Le T., Paris, J.-B. Baillière, 1899.

plus grosse que le bâtonnet et peut atteindre 1,5 μ de largeur; elle lui donne une forme spéciale, en baguette de tambour ou en épingle (fig. 249). Après la formation de la spore, le corps du bâtonnet peut se

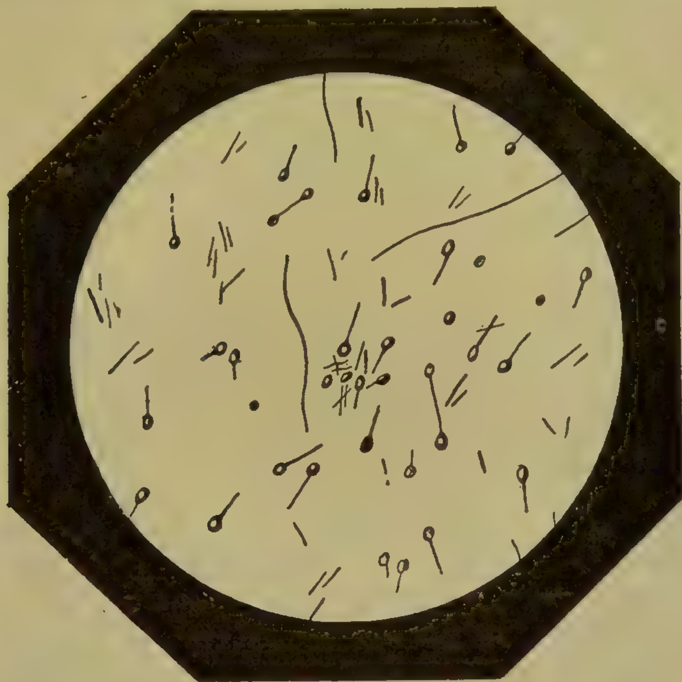


Fig. 249. — *Bacille du tétanos*, d'une culture dans le bouillon âgée ; éléments sporulés. 1000/1.

désagréger en partie ; à un certain moment même, dans les cultures très âgées, on ne rencontre que des spores libres. On peut trouver des formes en haltères, des éléments renflés sans apparence de spores, qui sont de véritables formes d'involution.

D'après Kanthack et Connell (1), les éléments présentent sur toute leur périphérie de longs cils sinueux, au nombre de vingt à trente et même plus. Dès que les spores se forment, ces cils disparaissent.

Coloration. — Le *Bacille du tétanos* se colore bien aux différentes couleurs d'aniline ; les éléments qui sporulent prennent souvent mal la couleur. Il *reste coloré* par la méthode de Gram. Les spores se colorent par les procédés ordinaires de double coloration des spores, par la méthode d'Ehrlich et par la solution de Ziehl; leur coloration porte surtout sur la partie périphérique, le centre restant incolore.

Cultures. — Pour isoler le microbe du tétanos, Kitasato mit à profit successivement la grande résistance de ses spores à la chaleur et sa qualité d'anaérobie. En ensemençant du pus de tétanique, il obtient d'abord des cultures impures, contenant, avec le Bacille de Nicolaier, plusieurs autres espèces, aérobies et anaérobies. En chauffant ces cultures à 80° pendant trois quarts d'heure, la plupart des espèces étrangères périssent ; le *Bacille du tétanos* subsiste, en gardant toute sa

(1) Kanthack et Connell, The flagella of the tetanusbacillus and other contributions to the morphology of the tetanusbacillus (*Journ. of Pathology*, IV, 1897, p. 452).

virulence, comme le démontrent les inoculations. En faisant alors, avec ces cultures, des cultures sur plaques en présence d'hydrogène, il se développe des colonies que l'examen microscopique et l'inoculation démontrent être l'espèce en question. Ces colonies servent à ensemencer d'autres milieux et à inoculer des animaux qui offrent un tétanos typique.

On peut isoler le microbe à l'état de pureté au moyen de cultures sur plaques par les différents procédés indiqués pour les anaérobies (p. 234 et suiv.). La méthode très simple de Vignal (p. 236) est particulièrement à recommander.

Avec ces colonies, il est facile d'obtenir des cultures pures sur différents milieux en tenant compte des exigences particulières de l'espèce. Le *Bacille du tétanos* est anaérobie ; il végète au mieux en l'absence totale d'oxygène, dans le vide ou dans un gaz inerte comme l'hydrogène. Comme le font remarquer Vaillard et Vincent, ce n'est cependant pas un anaérobie tout à fait absolu ; il peut croître en présence de faibles proportions d'air, ce qui explique comment il se développe dans les cultures impures où l'oxygène est en majeure partie absorbé par les espèces étrangères qui y poussent avec lui. On pourrait même graduellement l'habituer à croître dans un air à peine raréfié, sans lui voir perdre ses propriétés. Il se développe aisément dans la gélose ou la gélatine, dans les couches profondes, où la diffusion de l'oxygène est arrêtée par les couches supérieures. On prend des tubes de gélatine ou de gélose, contenant de la gelée sur une hauteur de 10 à 12 centimètres, on les soumet à l'ébullition pendant une demi-heure pour purger d'air le milieu, puis on les refroidit brusquement. On les inocule en piqûre profonde et on recouvre la surface du milieu d'une couche de 1 centimètre d'huile stérilisée. Ou bien, on fait les cultures dans les tubes de Roux, en présence d'hydrogène. Kitasato conseille d'ajouter au milieu une petite quantité d'une substance réductrice, 2 p. 100 de glucose, 0,10 p. 100 de sulfo-indigotate de soude, 5 centimètres cubes p. 100 de teinture bleue de tournesol, pour absorber les dernières traces d'oxygène. La méthode de Würtz et Foureur (p. 237) permet d'obtenir aisément de grandes quantités de cultures en bouillon.

Le microbe se développe aussi bien dans les milieux acides que dans les neutres; le tournesol bleu, ajouté aux cultures, ne rougit pas, ce qui indique qu'il n'y a pas de formation d'acide; le tournesol rouge ne bleuit pas dans les mêmes conditions, il ne se forme donc pas d'alcali. Au-dessous de 14°, la végétation ne se fait pas; à 18°, le développement est lent; vers 38°, il est très rapide. Le *Bacille du tétanos* croît même encore rapidement à 43 degrés.

Cultures sur plaques de gélatine. — En partant de la sérosité ou du pus tétaniques, on obtient des cultures sur les plaques de gélatine maintenues dans l'hydrogène, ou dans de petits tubes remplis de gélatine selon la méthode de Vignal (p. 236); les colonies ont toujours le même aspect. En maintenant les cultures aux environs de 20°, les colonies tétaniques deviennent visibles à l'œil nu comme de petits points blanchâtres, vers le troisième ou quatrième jour. En usant d'un grossissement moyen, on leur reconnaît un aspect assez particulier. Elles sont formées d'une masse centrale arrondie, d'une teinte jaunâtre,

d'où partent de nombreux rayons très fins ; l'aspect rappelle assez celui de la colonie de *Bacillus mesentericus vulgatus*. La gélatine se liquéfie, mais lentement, beaucoup moins vite que chez la dernière espèce citée.

Cultures dans la gélatine. — En inoculant par *piqûre profonde* un tube de gélatine privée d'air par ébullition puis refroidie, ou mieux un tube de gélatine additionnée de substances réductrices, glucose à 2 p. 100, sulfo-indigotate de soude à 0,1 p. 100, teinture bleue de tournesol à 5 centimètres cubes p. 100, on obtient une culture très caractéristique, représentée figure 250.



Fig. 250. — Culture du *Bacille du tétanos* sur gélatine glucosée inoculée en piqûre profonde, âgée de six jours (d'après Kitasato).



Fig. 251. — Culture du *Bacille du tétanos* sur gélatine glucosée, après répartition dans le milieu de la matière d'ensemencement (d'après Fraenkel et Pfeiffer).

Au bout de quatre à cinq jours à 18°, on voit apparaître, à la partie inférieure du tube, de petits points nuageux, d'où partent bientôt de très fins tractus radiaires, perpendiculaires à la piqûre. La culture a un aspect floconneux. La gélatine se liquéfie lentement, à mesure que des bulles gazeuses se dégagent. La gélatine entièrement liquéfiée s'éclaircit vite ; au fond du liquide, la culture forme des flocons blancs.

Si l'on répartit par agitation la matière d'ensemencement dans la gelée fondue, on obtient un autre aspect de culture représenté figure 251.

Les colonies apparaissent au bout de six jours, d'abord dans le bas du tube, comme de petites taches floconneuses, entourées d'une fine auréole. Plus tard, ces taches grandissent et s'entourent d'une zone de filaments rayonnants qui leur donnent l'aspect représenté ci-dessus. La gélatine se liquéfie peu à peu; les colonies floconneuses se déposent au fond du tube et le liquide devient tout à fait limpide.

Cultures sur gélose. — Les caractères des cultures sur gélose sont très voisins, mais moins spéciaux. Les colonies sont moins floconneuses; les tractus sont moins fins et plus sinueux. Il se dégage des gaz qui fendillent la gelée.

Cultures sur sérum. — Sur sérum coagulé, en piqûre, la culture se fait très bien, sans jamais liquéfier le milieu; elle a les mêmes aspects que celle sur gélose.

Cultures sur pomme de terre. — Les cultures sur pomme de terre seraient difficiles. D'après Vaillard et Vincent, le *Bacille du tétanos* donne sur ce milieu une couche humide, luisante, peu visible, assez semblable à celle qu'y forme le *Bacille typhique*. On y trouve de longs éléments, sans spores.

Cultures dans le bouillon. — Dans le bouillon, le développement est très rapide à 38 degrés. Le liquide se trouble en un jour et dégage de fines bulles de gaz. Vers le quinzième jour, la culture se ralentit, il se forme un dépôt au fond du vase. La réaction du milieu devient nettement alcaline.

Cultures dans le lait. — Il ne se produit pas de coagulation; le lait a une réaction amphotère.

Toutes les cultures dégagent une odeur spéciale rappelant celle de corne brûlée.

Cultures en présence d'air. — Sanchez-Toledo et Veillon avaient remarqué que dans les vieilles cultures le *Bacille du tétanos* pouvait se développer à la surface du milieu, en contact avec l'air. Valagussa (1) a pu le faire développer en aérobie vrai en le cultivant dans des bouillons de culture d'autres microbes, filtrés sur bougie Chamberland, surtout du *Bacillus subtilis*, *Bacillus fluorescens liquefaciens*, *Proteus vulgaris*. Les caractères des cultures sont peu différents de ceux des cultures en l'absence d'air. On y trouve des bâtonnets de 3 à 5 μ, tout à fait immobiles. Ce Bacille aérobie est plus sensible aux actions destructrices et de plus a perdu le pouvoir de produire des substances toxiques. Il ne peut que difficilement recouvrer sa puissance toxigène, en redevenant anaérobie, en vivant longtemps, à l'abri d'air, au contact de toxine tétanique virulente ou de produits de culture de saprophytes, et encore sa toxicité est passagère.

Ferran (2) dit aussi pouvoir obtenir un *Bacille du tétanos* aérobie en agitant fortement au contact de l'air une culture anaérobie en bouillon.

Propriétés biologiques.

Vitalité. — Le microbe est très résistant à l'égard des agents de destruction. La résistance paraît surtout due aux spores.

(1) Valagussa, Ricerche sulla aerobiosi del bacillo del T. (*Ann. d'Igiene sperim.*, VIII, 1898, p. 396).

(2) Ferran, Ueber das aerobische Verhalten des Tetanusbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 28).

Les spores résistent bien à la chaleur. Elles supportent sans périr une température de 80° pendant six heures et 90° pendant une heure ou deux; dans la vapeur d'eau à 100°, elles sont tuées en un quart d'heure; en cinq minutes à 115°, dans l'autoclave. D'après Vaillard et Vincent, elles seraient très sensibles à l'action de la lumière en présence de l'air; elles germent moins facilement, donnant des Bacilles atténués ou privés de virulence, et périssent même après un mois environ. A l'abri de l'air, elles résistent beaucoup mieux. Elles résistent pendant plus de dix heures dans l'acide phénique à 5 p. 100 et pendant plus de trois heures dans la liqueur de Van Swieten.

Virulence. — Les produits tétaniques conservent très longtemps leur virulence. Des morceaux de tissus où existait une plaie tétanique restent très longtemps actifs; les cadavres d'hommes ou d'animaux tétaniques restent donc dangereux longtemps. C'est aussi dû à la présence de spores. Il en est de même de la terre desséchée.

Les cultures sont aussi virulentes que les produits tétaniques et conservent aussi longtemps leur activité.

Produits formés dans les cultures. — Les gaz dégagés dans les cultures sont de l'hydrogène, de l'azote et des carbures d'hydrogène.

Produits toxiques. — L'expérience a amplement démontré que l'infection tétanique est une infection locale; le *Bacille du tétanos* pullule seulement dans la lésion locale et occasionne les accidents généraux à l'aide de produits solubles qu'il sécrète, produits qui se répandent par diffusion dans l'organisme et vont exercer loin du lieu de production leurs effets toxiques spéciaux. Ce sont ces produits toxiques qu'il importe donc surtout de connaître.

Brieger (1) a pu isoler des cultures impures de Rosenbach, faites sur de la viande ou de la cervelle hachées, trois ptomaïnes différentes par leurs propriétés chimiques et leur action physiologique. La *tétanine* cristallise en aiguilles, et détermine, à la suite d'injection sous-cutanée de quantité excessivement faible, les symptômes classiques du tétanos. Le *tétanotoxine* produit des convulsions toniques et cloniques. La *spasmotoxine* amène une salivation très énergique et des convulsions. Les résultats obtenus par la suite n'ont pas confirmé cette opinion sur l'activité et le rôle des ptomaïnes.

Knud Faber (2) a annoncé le premier qu'on pouvait déterminer un tétanos expérimental typique en inoculant aux animaux des bouillons de cultures très virulentes, privés de tout microbe par filtration sur porcelaine. Les effets toxiques ne se manifestent qu'après une certaine incubation dont la durée est en rapport avec la virulence de la culture et la dose inoculée. Après l'inoculation, il apparaît des convulsions qui débutent dans le voisinage du point inoculé, puis se généralisent ensuite.

Le liquide obtenu par filtration d'une culture âgée d'une vingtaine de jours possède une toxicité très grande. C'est ce liquide complexe que l'on désigne d'ordinaire sous le nom de *toxine tétanique*. Un cent-

(1) Brieger, Untersuch. über Ptomaïne, 3e p., 1886.
(2) Knud Faber, Die Pathogenese des T. (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1890, n° 31).

millième de centimètre cube donne le tétanos à la souris; un millième de centimètre cube peut tuer un cobaye en trois jours. Des doses massives de ce liquide, introduites dans l'estomac, ne donnent aucun symptôme tétanique.

La puissance toxique de tels liquides varie suivant la puissance nutritive du milieu et l'activité de la matière d'ensemencement. On peut ensemencer plusieurs fois de suite le même milieu en le filtrant chaque fois; le microbe y pullule à chaque reprise et accumule la substance toxique. C'est le moyen d'obtenir une toxine très active.

Knud Faber avait émis l'opinion que cette substance toxique se rapprochait des diastases, se basant surtout sur sa destruction par une chauffe de cinq minutes à 65°. Les travaux de Tizzoni, Cattani et Baquis (1) et surtout ceux de Vaillard et Vincent l'ont confirmé; Brieger et Fraenkel (2) ont pu isoler le principe actif, la véritable *toxine tétanique*, qu'ils considèrent comme une toxalbumine. En tout cas, il agit à dose absolument infinitésimale. Par ses caractères, elle se place à côté de la toxine diphtérique.

Évaporé dans le vide, le liquide filtré laisse un résidu brun, dégageant l'odeur propre aux cultures, extrêmement toxique. L'alcool n'en dissout qu'une faible partie ; la solution n'a pas de propriétés toxiques. La portion non dissoute par l'alcool est très soluble dans l'eau ; inoculée au cobaye, elle lui donne un tétanos typique; l'alcool précipite la substance active de sa solution sous forme de flocons grisâtres; en produisant dans le liquide un précipité de phosphate de chaux ou d'alumine, elle est en grande partie entraînée.

En usant de la méthode d'extraction spéciale, qui a été décrite à propos de la diphtérie (p. 596), Brieger et Boer (3) ont obtenu une toxine tétanique pure amorphe, qu'ils considèrent comme une toxalbumine, à effets toxiques excessivement puissants, déterminant les symptômes typiques du tétanos.

Pour Madsen (4), les cultures contiendraient deux substances toxiques différentes, la *tétanospasmine* et la *tétanolysine*.

La substance toxique contenue dans les cultures de tétanos est très sensible à l'action de la chaleur. Un liquide de filtration qui tue rapidement le cobaye à la dose de un deux-centième de centimètre cube, s'atténue considérablement lorsqu'on le chauffe, en vase clos, pendant quarante minutes à 60° ou vingt minutes à 62°; une température de 65°, maintenue pendant trente minutes, le rend tout à fait inactif.

Exposée à l'air, en couche mince, cette toxine brute s'atténue rapidement, surtout si l'action de la lumière intervient aussi. A l'abri de l'air, l'effet de la lumière, même des rayons solaires directs, est bien moins appréciable.

En vase clos, à l'abri de l'air et de la lumière, la toxine garde pendant des mois toute son activité.

(1) Tizzoni, Cattani et Baquis, Bacteriologische Untersuchungen über den Tetanus (*Ziegler's Beitr. zur pathol. Anat.*, 1890). — Tizzoni et Cattani, Ueber das Tetanusgift (*Centralbl. für Bakt.*, VIII, 1890, p. 69).

(2) Brieger et Fraenkel, Untersuch. über Bacteriengifte (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1890, nos 11 et 12).

(3) Brieger et Boer, Ueber die Toxine des Diphterie und der T. (*Deutsche med. Wochenschr.*, no 49, 3 décembre 1896).

(4) Madsen, Ueber Tetanolysin (*Zeitschr. für Hygiene*, XXXII, 1899, p. 214).

Les différentes cultures en bouillon ne présentent pas une toxicité identique; la composition du milieu influe beaucoup sur cette propriété. Ainsi Vaillard et Vincent ont remarqué que les milieux très nutritifs, qui déterminent une pullulation abondante du microbe, donnent un produit moins toxique que les bouillons moins nutritifs où le microbe se développe moins luxurieusement. Le simple bouillon de bœuf, préparé avec une partie de viande pour deux parties d'eau, sans addition de peptones, le sang naturel, le sérum frais, donnent un produit très actif.

On peut augmenter facilement, comme l'ont montré ces derniers savants, la toxicité des cultures en bouillon, en utilisant la particularité que présente le *Bacille du tétanos* de se développer à nouveau dans un milieu où une première génération de la même espèce a déjà vécu. La proportion de substance toxique augmente alors dans le milieu. Ainsi, une culture en bouillon, filtrée après vingt jours, donne une toxine qui tue le cobaye à la dose minima de un cent-cinquantième de centimètre cube. En ensemençant dans ce liquide des Bacilles jeunes, et en filtrant au dix-huitième jour, on obtient une toxine qui tue le cobaye au cinq-centième de centimètre cube. Ce dernier liquide n'est plus nutritif, l'ensemencement nouveau du microbe reste infécond; mais en ajoutant une petite proportion de bouillon neuf (20 pour 350 c.c.), la troisième végétation est encore assez abondante. La culture filtrée au seizième jour donne un liquide qui tue le cobaye au millième de centimètre cube et la souris au cent-millième de centimètre cube.

Inoculation expérimentale.

Les cultures pures inoculées aux animaux réceptifs déterminent les symptômes caractéristiques du tétanos. Les souris, les rats blancs et les cobayes sont des plus sensibles; une dose excessivement minime, un cinq-centième de centimètre cube, suffit pour leur donner un tétanos typique qui les fait mourir dans un délai de trente-six à quarante heures. Le lapin exige des doses de dix à trente gouttes; les premiers symptômes n'apparaissent que du deuxième au troisième jour, ou même plus tard; la mort ne survient que vers le quatrième ou même le dixième jour après l'apparition des accidents. Le chien, la poule et le pigeon supportent souvent sans périr d'assez fortes doses. L'absorption par les voies digestives ne produit rien.

Les symptômes que présentent les animaux inoculés sont tout à fait semblables à ceux du tétanos humain. L'inoculation est suivie d'une période d'incubation qui varie avec l'animal et la dose de produit inoculée; on voit ensuite éclater les symptômes spéciaux de contraction musculaire. Le tétanos commence toujours par les muscles voisins du point d'inoculation, puis se généralise. Les cultures peu actives déterminent une sorte d'affection chronique, pouvant même guérir.

A l'autopsie des animaux qui ont succombé, on ne trouve rien ou presque rien au point d'inoculation; les tissus sont légèrement œdématiés, il s'en écoule à la coupe un peu de sérosité rougeâtre; l'endroit où l'on a fait l'opération peut même être difficile à reconnaître. Les viscères ne présentent pas de lésions bien appréciables, mais seulement un état de congestion plus ou moins marqué. On ne retrouve que très

rarement au microscope des Bacilles dans la région de l'inoculation; mais on obtient presque toujours des cultures en ensemençant des lambeaux de tissu conjonctif pris à cet endroit et on communique le tétanos aux animaux en leur inoculant de la même substance. Le sang de la circulation générale ne paraît pas contenir le microbe, au moins avant la mort; dans les derniers moments, cependant, il pourrait y pénétrer; c'est alors qu'on peut en rencontrer dans la moelle des os, le foie, la rate, le cerveau.

Le *Bacille du tétanos* n'envahit donc pas l'organisme; il ne semble même pas pulluler d'une façon notable dans la région infestée. Les produits prélevés chez un animal rendu tétanique par injection de cultures pures sont inactifs.

Il ressort nettement de toutes les expériences que c'est la toxine sécrétée qui produit le tétanos. Dans le tétanos expérimental même, c'est la toxine des cultures employées qui cause les accidents. Vaillard et Vincent ont en effet démontré que si l'on inoculait des cultures jeunes, ne contenant pas encore de toxine, le tétanos ne se produisait pas, ou l'on n'observait que des symptômes très légers; et cependant la quantité de microbes introduite était très grande. Les mêmes observateurs ont pu inoculer de grandes quantités de spores, chauffées à 65° pour détruire la toxine, ou lavées pendant plusieurs jours sur un culot de filtre Chamberland pour l'enlever, sans occasionner d'accidents. Ces spores ne sont pas atténuées, car, ensemencées dans du bouillon, elles donnent des cultures très toxiques. Elles ne se développent pas chez l'animal. Ils ont obtenu les mêmes résultats en lavant les spores à l'eau stérilisée qui ne peut en rien les altérer.

Le fait doit être dû, comme Besson l'a montré pour le *Vibrion septique* (Voy. p. 649), à l'englobement et la destruction des spores par les cellules lymphatiques phagocytaires s'accumulant au point d'inoculation; la toxine, douée de chimiotaxie négative, empêche l'afflux leucocytaire et permet aux spores de germer.

Il semble donc bien démontré aujourd'hui que le *Bacille du tétanos* ne pullule pas dans les tissus où on l'introduit, mais y disparaît au contraire assez vite, et que ce Bacille ou ses spores sans toxine sont inoffensifs.

Si, cependant, on affaiblit l'organisme en produisant un traumatisme ou en faisant agir un agent chimique, en injectant au préalable des substances à propriétés chimiotactiques négatives, de l'acide lactique ou de la triméthylamine, par exemple, ces spores privées de toxine, qui étaient inoffensives tout à l'heure, peuvent infecter l'organisme et causer un tétanos mortel. Il en est de même si on les mélange, avant d'inoculer, avec des cultures pures de *Micrococcus prodigiosus*. Ce sont là des produits qui empêchent l'afflux des leucocytes au point lésé et la phagocytose qui en est la conséquence. L'association avec les microbes ordinaires du pus ne donne pas de résultats.

Ces dernières expériences, établies par Vaillard et Vincent, ont une haute importance pour la compréhension de l'étiologie du tétanos spontané. Elles démontrent, en effet, qu'il ne suffit pas, pour prendre le tétanos, du contact de l'agent pathogène seul; il faut qu'il ait des auxiliaires, soit inhérents à l'individu, affaiblissement ou traumatisme notable, soit extérieurs à lui, présence d'un microbe favorisant l'infection. C'est probablement cette dernière condition qui donne à la terre sa

puissance tétanigène reconnue ; c'est elle aussi qui rend si virulents les liquides recueillis dans les plaies de tétaniques, qui contiennent toujours, à côté des *Bacilles du tétanos*, d'autres espèces.

Inoculation de toxine. — Injectée aux animaux, la toxine tétanique produit exactement les symptômes du tétanos typique.

La souris blanche et le cobaye sont des plus sensibles ; il suffit de doses excessivement minimes pour les tuer, certaines toxines tuant la souris au millionième de centimètre cube.

Le lapin, le cheval, le chien, la poule, la grenouille, ne sont tués qu'avec des doses notablement plus fortes.

L'homme est extrêmement sensible, comme le montrent les accidents survenus à Nicolas (1) à la suite d'une piqûre de la main avec l'aiguille d'une seringue venant de servir à une injection.

L'injection sous-cutanée est suivie d'une période d'incubation variable de quelques heures à plusieurs jours, suivant la dose employée et l'animal. Le tétanos se déclare d'abord dans la région inoculée, puis se généralise.

L'injection intraveineuse ou intrapéritonéale produit d'emblée un tétanos généralisé.

L'injection dans la substance cérébrale (Roux et Borrel) (2) produit un véritable tétanos cérébral, avec crises convulsives, troubles moteurs, excitation, après une incubation de huit à douze heures pour le lapin.

La toxine tétanique semble être un poison s'adressant exclusivement au système nerveux et surtout au système nerveux sensitif ; la contracture tétanique n'est qu'un phénomène secondaire, d'ordre réflexe. Les lésions nerveuses centrales signalées surtout par Marinesco (3) ne paraissent pas être sous la dépendance directe de l'intoxication tétanique.

Des expériences de Wassermann et Takaki (4) montrent que la substance cérébrale de cobaye neutralise *in vitro* une certaine quantité de toxine tétanique. En broyant un cerveau avec 10 centimètres cubes d'eau salée, on obtient une émulsion dont 1 centimètre cube neutralise jusqu'à dix doses mortelles pour la souris et atténue jusqu'à soixante doses. On réussit surtout en inoculant le mélange à la souris ou dans le péritoine du cobaye. Cette émulsion, toutefois, n'est ni immunisante ni curative. Marie (5) a démontré qu'en injectant, même en même temps, en deux points différents du corps du même animal, l'émulsion et la toxine, l'animal mourait du tétanos comme un témoin. Pour Metschnikoff (6), dans l'expérience *in vitro*, il y aurait simplement fixation de la toxine par certaines particules des éléments nerveux que les phagocytes pourraient absorber et détruire.

(1) Nicolas, Sur un cas de T. chez l'homme par inoculation accidentelle des produits solubles du Bacille de Nicolaier (*Soc. de Biol.*, 21 octobre 1893).

(2) Roux et Borrel, T. cérébral et immunité contre le T. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 225).

(3) Marinesco, Les lésions médullaires provoquées par la toxine tétanique (*Soc. de Biol.*, 1896, p. 726, 1897, p. 795).

(4) Wassermann et Takaki, Ueber tetanusantitoxische Eigenschaften des normalen Centralnervensystem (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1898, n° 1, p. 5).

(5) Marie, Recherches sur la toxine tétanique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 591).

(6) Metschnikoff, Influence de l'organisme sur les toxines (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 31 et 263).

La substance de la moelle ne donnerait aucun résultat, non plus que d'autres organes du cobaye.

Le cerveau du lapin a la même action que celui du cobaye ; celui de la poule a une action fébrile, celui de la grenouille nulle.

D'après Roger et Josué (1), la névrine et le chlorhydrate de bétaïne neutraliseraient la toxine tétanique.

A la suite d'injection de toxine, les urines du lapin et du chien tétaniques gagnent des propriétés convulsivantes, même pendant la période d'incubation.

Immunité et sérothérapie.

Les animaux qui ont guéri du tétanos occasionné par l'inoculation de cultures pures très virulentes ne présentent aucune immunité à l'égard d'autres virus tétaniques; ils succombent à de nouvelles inoculations aussi facilement que des animaux neufs.

Behring et Kitasato (2) sont parvenus les premiers à conférer à des lapins l'immunité à l'égard du tétanos en leur inoculant de la toxine tétanique et du trichlorure d'iode, en mélange ou successivement. Brieger, Wassermann et Kitasato (3) arrivent plus sûrement au même résultat, en injectant des doses graduellement croissantes d'un mélange de cultures tétaniques sans spores (1 partie) et de bouillon de thymus (2 parties).

Le procédé de Roux et Vaillard (4) est beaucoup plus pratique. Il consiste à inoculer l'animal avec des doses minimes d'abord, puis graduellement croissantes de bouillon de culture filtré sur porcelaine, c'est-à-dire de toxine tétanique, d'abord additionnée d'iode, ce qui diminue son activité, comme nous l'avons déjà vu pour la diphtérie, puis pure.

Ces savants se servent d'une toxine excessivement active, préparée comme il a été dit précédemment, tuant la souris au quatre-millième de centimètre cube. Le procédé réussit très bien pour le cobaye, le lapin, le cheval, la brebis et la vache. Prenons l'exemple du lapin et du cheval.

Immunisation du lapin. — Le premier jour, le lapin reçoit en inoculation sous-cutanée un mélange de 3 centimètres cubes de toxine et de 1 centimètre cube de solution de Gram.

Le cinquième jour, on lui injecte un mélange de 5 centimètres cubes de toxine et de 2 centimètres cubes de solution de Gram.

Le neuvième jour, un mélange de 12 centimètres cubes de toxine et 3 centimètres cubes de solution de Gram.

Huit jours après cette dernière injection, le sérum du lapin neutralise déjà la toxine à volume égal. On peut alors injecter de la toxine pure, à doses graduellement croissantes : 5, 10, 15, 20, 30, 40 centimètres cubes,

(1) Roger et Josué, Action neutralisante de la névrine et du chlorhydrate de bétaïne sur la toxine tétanique (*Soc. de Biol.*, 1898, n° 11, p. 312, et n° 37, p. 1081).

(2) Behring et Kitasato, Ueber das Zustandekommen der Diphterie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1890).

(3) Brieger, Kitasato et Wassermann, Ueber Immunität und Giftfestigung (*Zeitschr. für Hygiene*, XII, 1892, p. 254).

(4) Roux et Vaillard, Contribution à l'étude du T. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893 p. 64).

en ayant soin de laisser un intervalle de huit jours entre chaque injection. On pourra alors rapprocher les injections, les faire plus abondantes, sous la peau, dans le péritoine ou dans le sang ; l'animal est immunisé et ne réagit plus ou ne présente qu'une minime hyperthermie, lorsqu'on lui injecte 100, 120 centimètres cubes d'une toxine si active.

Immunisation du cheval (Nocard, *in* Roux et Vaillard, *op. cit.*).

1er jour.	Injection de 1/2 centimètre cube de toxine tuant la souris au 1/2000e de centimètre cube, mélangée à quantité égale de solution de Gram.							
4e —	Injection de	2cc,1/2 du même mélange.						
9e —	—	4cc	—					
12e —	—	5cc	—					
17e —	—	10cc d'un mélange de	2 p. de toxine pour	1 p. de solution iodée.				
20e —	—	10cc	—	2	—	1	—	
21e —	—	7cc	—	3	—	1	—	
25e —	—	5cc	—	4	—	1	—	
29e —	Injection dans la jugulaire de	15cc d'un mélange de 15 parties de toxine et 1 de solution iodée.						
32e —	—	25cc d'un mélange contenant 1/30e de solution iodée.						
35e —	Injection dans la veine de	10cc de toxine pure.						
37e —	—	15cc	—					

Pendant ces injections intraveineuses, la température reste normale; il survient un peu de phlébite, on suspend les inoculations intraveineuses.

45e jour.	Injection sous-cutanée de	10cc	de toxine pure.
48e —	—	10cc	—
49e —	—	10cc	—
50e —	—	20cc	—
51e —	—	15cc	—
57e —	—	20cc	—
60e —	—	20cc	—
64e —	—	20cc	—

Ces injections ne provoquent aucun accident ni local ni général.

70e jour. Injection dans la jugulaire de 35cc de toxine pure.

Sudation rapide et abondante, diarrhée, élévation de température (39°); les phénomènes se sont dissipés le lendemain.

72e jour. Injection dans la jugulaire de 150cc de toxine pure.

Mêmes phénomènes, mais disparaissant le jour même.

76e jour. Injection dans la jugulaire de 150cc de toxine pure.

Mêmes phénomènes, mais encore moins durables.

Le degré d'immunité obtenu est déjà considérable ; du sang recueilli le soixante-dix-septième jour donne un sérum dont le pouvoir immunisant est de un million.

On peut encore, par des injections massives, de 200 à 300 centimètres cubes, répétées de dix en dix jours, accentuer l'immunité et exalter la puissance antitoxique du sérum. L'état d'immunité est si marqué que l'injection sous-cutanée de 150 centimètres cubes de culture vivante, très

active, ne détermine que des symptômes passagers, un œdème plus ou moins fort au point d'inoculation, de la fièvre, un abattement plus ou moins prononcé. Ce que l'on doit recommander, pour mener à bonne fin l'immunisation, est de ne recourir à la toxine pure qu'après avoir constaté que le sang est nettement antitoxique.

L'immunité persiste assez longtemps après la cessation des injections vaccinantes; cependant la puissance antitoxique du sang diminue à partir d'un certain moment après la dernière injection; elle est déjà manifeste après quinze à vingt jours et s'accuse de plus en plus. Comme pour la diphtérie, si l'on veut avoir un sérum très actif, il faut donc renouveler périodiquement les injections de toxine. Ici, chaque nouvelle introduction de toxine augmente l'activité du sérum ; il semble que l'expérimentateur puisse ainsi l'exalter à volonté.

Sérothérapie. — Behring et Kitasato, dans leur travail précité, ont fait connaître que le sérum du sang des animaux immunisés à l'égard du tétanos jouissait de la propriété de détruire la toxine tétanique, de préserver les animaux contre son action et même de les guérir lorsqu'ils présentaient déjà des symptômes accusés d'intoxication tétanique. Divers médecins italiens publiaient peu après des cas de guérison de tétanos déclaré chez l'homme, par usage de sérum de chiens immunisés par Tizzoni et Cattani.

Les recherches de Roux et Vaillard, usant de sérum extrêmement actif, répétées du reste depuis par de nombreux expérimentateurs, démontrent très clairement que, chez l'homme ou chez l'animal, on ne peut pas compter sur le sérum pour guérir un tétanos déclaré, aigu ou grave. Au moment où se produisent les premiers symptômes du tétanos, en effet, la toxine a déjà exercé son action sur divers éléments, en particulier les éléments nerveux ; les modifications produites sont définitivement acquises, le mal est irréparable. Dans les seuls cas où l'intoxication est lente, où la marche est chronique, où le poison semble s'élaborer successivement, par petites doses, le sérum a la chance de pouvoir agir, non pas alors sur la toxine qui a impressionné les éléments, mais sur celle à venir ; c'est donc dans le traitement du tétanos chronique que le sérum rendra surtout des services.

Les expériences démontrent que le sérum antitétanique jouit d'un pouvoir préventif certain à l'égard de la toxine et de l'infection bacillaire elle-même. C'est en mettant cette propriété à profit qu'on arrivera à tirer de grands avantages de son emploi. L'enseignement donné à ce point de vue par la médecine vétérinaire est des plus probants. A l'aide des inoculations préventives, pratiquées sur les conseils de Nocard (1) qui a fait en leur faveur une campagne si dévouée, bien des vétérinaires ont vu disparaître les cas de tétanos qu'ils observaient si fréquemment, souvent même on peut dire épidémiquement, à la suite de certaines opérations, la castration principalement, ou de certains traumatismes, les blessures du pied, les clous de rue chez le cheval, par exemple. C'est une indication très précieuse pour la médecine humaine, dont on ne saurait trop conseiller d'user lorsqu'on se trouve en face d'un de ces traumatismes qui se compliquent trop fréquemment de tétanos, plaies souillées

(1) Nocard, Sur la sérothérapie du T.; essais de traitement préventif (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 22 octobre 1895).

par la terre ou produits suspects, plaies par armes à feu, dans lesquelles la balle a entraîné des lambeaux de vêtements chargés de poussières, blessures de flèches empoisonnées avec des boues tétanifères, comme le sont celles des naturels des Nouvelles-Hébrides d'après les observations de Le Dantec.

Le sérum antitétanique s'est du reste toujours montré inoffensif, malgré les hautes doses auxquelles on l'a employé chez l'homme (deux, trois, quatre injections de 100 centimètres cubes en quelques jours, dans un but curatif). Comme agent préventif, des doses bien moindres, de 5 à 10 centimètres cubes, paraissent largement suffire.

Habitat et rôle étiologique.

Le *Bacille du tétanos*, comme le montre l'expérimentation, est très répandu dans le milieu extérieur.

La terre, et surtout la terre de jardin, la terre fumée, les boues de rues, en est le réceptacle par excellence. Il est beaucoup plus abondant dans les couches superficielles et devient rare dans les couches profondes. Si l'inoculation de ces terres aux cobayes donne plus souvent la septicémie du *Vibrion septique* que le tétanos, ce n'est pas que le *Bacille du tétanos* est plus rare que ce dernier microbe ; c'est que l'infection septicémique, plus envahissante, prend vite le dessus et masque complètement la présence des germes tétaniques.

Les poussières des habitations sont communément tétaniques, tout ce qu'elles souillent aussi, particulièrement les toiles d'araignées que l'on emploie si communément encore dans nos campagnes pour combattre les hémorragies.

Les excréments des animaux sains, du cheval, de la vache, du chien, donnent très fréquemment le tétanos aux animaux inoculés ; ceux de l'homme également, mais moins souvent (1), à cause de la présence en grande abondance du *Vibrion septique* ; il faut prendre ici le lapin, moins réceptif à son égard que la souris ou le cobaye.

Les herbivores domestiques paraissent aussi être les animaux qui entretiennent et disséminent les spores tétaniques dans le milieu extérieur. On se rappelle le rôle que Verneuil (2) voulait faire jouer au cheval dans la contagion du tétanos ; l'expérience a démontré, en partie, la véracité de son opinion sur l'origine équine du tétanos.

G. Roux (3) a démontré la présence du *Bacille du tétanos* dans les dépôts vaseux des réservoirs d'eau du Rhône alimentant Lyon ; Lortet (4) dans la vase de la mer Morte ; Vaillard (5) dans l'enduit de bougies Chamberland ayant filtré de l'eau de Seine.

Le tétanos est provoqué par la contamination d'une plaie par des produits contenant des germes tétaniques, surtout par la terre, les poussières ; c'est une maladie *tellurique*. Le *tétanos spontané* véritable n'existe pas ; les cas cités comme tels sont de ceux où la porte d'entrée du virus

(1) Pizzini, Il Bacillo tetano nelle feci dell' uomo (*Rivista d'Igiene*, IV, 1898).

(2) Verneuil, *loc. cit.*, p. 654.

(3) G. Roux et Arloing, Sur le projet d'amélioration et d'extension du service des eaux de la ville de Lyon (*Revue d'hygiène*, 1891, p. 67).

(4) Lortet, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1891.

(5) Vaillard, art. Tétanos du *Traité de méd.* de Brouardel, II, p. 678.

n'est pas connue; et on sait qu'elle peut être profonde, échapper à toutes les investigations, si elle réside par exemple dans l'intestin dont le contenu est riche en spores tétaniques. Nous avons vu précédemment que le contact des spores avec une plaie ne suffit pas pour que le tétanos se produise ; qu'il faut la présence de certaines conditions favorisant leur développement sur place et la production de leur toxine, en particulier la présence d'autres microbes inoffensifs par eux-mêmes, mais empêchant, par diffusion de produits qu'ils forment, l'afflux des leucocytes qui phagocyteraient ces spores et les empêcheraient ainsi de germer. Ce rôle des associations microbiennes, de ces microbes favorisants, est une précieuse indication pour le traitement des plaies ; il est certain qu'une antisepsie soignée réduira les chances d'infection tétanique en s'opposant à leur développement.

Le même Bacille a été obtenu par Beumer (1) dans le *tétanos des nouveau-nés* ; il n'a cependant pas eu de cultures pures. Son observation permet toutefois de réunir ce *trismus des nouveau-nés* au tétanos traumatique. La contagion se fait certainement par la plaie ombilicale ; l'affection devient rare depuis l'emploi de l'antisepsie.

Le *tétanos puerpéral* a pour origine la contamination de la plaie utérine ou des lésions produites pendant l'accouchement.

Recherche et diagnostic.

Le Bacille se trouve toujours dans la plaie qui a été l'origine de l'infection ; c'est là qu'il faut le chercher. On fait, à l'aide de la sérosité ou du pus qu'on peut recueillir à cet endroit, des préparations microscopiques que l'on colore de la manière habituelle. Lorsque le microbe est abondant, on peut en trouver de suite ; d'autres fois, il faut faire de nombreuses préparations. Il reste coloré par la méthode de Gram, ce qui peut être encore une bonne indication.

L'aspect, les dimensions des bâtonnets et surtout la forme spéciale, *en épingle*, des éléments sporifères donneront de fortes présomptions en faveur de ce microbe. Il faut cependant se souvenir que dans les mêmes milieux, dans la terre en particulier et certaines plaies souillées par elle, on trouve des formes semblables qui ne sont pas ou sont peu pathogènes.

L'inoculation au cobaye ou à la souris donne des résultats plus sûrs. Il faut la faire assez profonde et, mieux, exciser un petit fragment de la plaie et l'introduire sous la peau de l'animal. Dans le cas de tétanos, l'animal peut devenir tétanique déjà en vingt-quatre heures ; les contractures débutent par les muscles voisins du point inoculé.

Agglutination et séro-diagnostic. — Le sérum normal de l'homme, de la souris, du cobaye, du lapin, de la grenouille, de la poule, n'a aucune propriété agglutinante sur les cultures du *Bacille du tétanos*. Celui du cheval ou de l'âne a, sur elles, un pouvoir agglutinant très marqué, mais seulement au-dessous de 1 p. 100.

Le sérum antitétanique du cheval est fortement agglutinant, jusqu'à 1 p. 50000. L'immunisation peut aussi créer le pouvoir agglutinant

(1) Beumer, Zur Aetiologie der Trismus sive T. neonatorum (*Zeitschr. für Hygiene*, III, 2e p., p. 242).

chez le lapin. Il est donc possible d'utiliser ces sérums d'animaux immunisés pour l'étude et la détermination de cultures.

D'un autre côté, le tétanos humain, spontané ou expérimental, ne développe pas le pouvoir agglutinatif. Il ne peut donc pas être question de séro-diagnostic du tétanos (1).

On a signalé dans la terre (2), les excréments, l'intestin (3), des Bacilles morphologiquement semblables au *Bacille du tétanos* qui s'en distinguent par de petites particularités de coloration et de culture, mais surtout par l'absence de tout pouvoir pathogène. Le *Bacillus putrificus coli* de Bienstock en est aussi voisin.

BACILLUS CHAUVÆI Arloing, Cornevin et Thomas.

(*Bacille du charbon symptomatique.*)

Atlas de microbiologie, pl. XVIII.

On rangeait autrefois dans les affections charbonneuses, à côté du charbon vrai produit par le *Bacillus anthracis*, une maladie contagieuse, sévissant surtout sur l'espèce bovine, que Chabert (4) a séparée sous le nom de *charbon symptomatique*. Arloing, Cornevin et Thomas (5) en ont fait une étude complète; ils sont parvenus à lui assigner comme cause le développement dans l'organisme d'une Bactérie dont ils ont obtenu des cultures pures, à l'aide desquelles a été reproduite, avec tous ses caractères, la maladie primitive. Ils ont donné à cette espèce le nom de *Bacterium Chauvæi*, qui doit devenir *Bacillus Chauvæi*, aucun caractère n'en faisant un *Bacterium*, même dans le cas où ce dernier genre devrait être conservé.

La maladie, le *Rauschbrand* des Allemands, sévit dans les deux mondes, surtout dans les régions où la population bovine, à laquelle elle s'attaque de préférence et qu'elle décime fréquemment, est dense. En France, on l'observe principalement dans la région des hauts pâturages, en Auvergne, dans le Dauphiné, le Limousin, les Basses-Pyrénées; elle n'est pas rare dans les pays plus plats, les plaines de la Lorraine par exemple. Elle a un maximum dans les mois les plus chauds de l'année. On peut observer aux mêmes endroits des épizooties de charbon symptomatique en même temps que du charbon vrai; ces deux affections ont même été rencontrées ensemble sur les mêmes individus.

Le charbon symptomatique est une affection qui est presque toujours mortelle. Lorsqu'il se déclare chez des bœufs, vaches ou moutons adultes, le pronostic doit être toujours défavorable. Par sa marche, il se rapproche beaucoup plus des septicémies que des maladies charbonneuses vraies. Le mal débute par de la fièvre, une raideur musculaire, des tremblements partiels; l'animal devient triste, la rumination s'arrête, il est pris de frissons et d'un refroidissement subit; alors la tumeur caractéristique apparaît sur un membre. Dans lès cas très

(1) J. Courmont et Jullien, De l'agglutination du Bacille de Nicolaier par le sérum d'animaux normaux, tétaniques ou immunisés (*Arch. de méd. expér.*, XI, 1899).

(2) San Felice, *loc. cit.*, p. 652.

(3) Tavil, Ueber den Pseudotetanusbacillus der Darmes (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 538).

(4) Chabert, Traité du charbon ou anthrax dans les animaux, 7e édition, Paris, 1790.

(5) Arloing, Cornevin et Thomas, Le charbon symptomatique du bœuf, 2e édit., Paris, 1887.

graves, la tumeur se développe brusquement, avant que l'attention soit éveillée par des symptômes généraux. Cette tumeur, qui se trouve d'habitude dans les grosses masses musculaires, peut être bien apparente ou cachée lorsqu'elle siège dans la profondeur; on la trouve surtout à l'épaule, à la cuisse, sur la croupe, sur la poitrine, dans la gorge (glossanthrax). C'est une tumeur irrégulière, mal circonscrite, qui progresse très rapidement; en huit ou dix heures, elle peut atteindre un développement énorme. Très douloureuse à la pression et de consistance homogène, pâteuse au début, elle devient peu à peu insensible et crépitante, même sonore à la percussion, ce qui indique la présence de gaz à son intérieur. A la coupe, son tissu noir, friable, d'où le nom de charbon, laisse écouler d'abord du sang rouge, plus tard du sang noir et en dernier lieu de la sérosité roussâtre, spumeuse. Dans les régions très riches en tissu conjonctif, l'œdème prend des proportions énormes; il s'en écoule un liquide citrin ou rosé. Lorsque la tumeur cesse de croître, les symptômes s'aggravent, l'animal devient indifférent et tombe dans une adynamie profonde; la mort arrive de la trente-sixième à la cinquante-sixième heure après les premiers symptômes. Sa guérison est rare, exceptionnelle même dans nos pays.

A l'autopsie, à part la lésion locale, les organes paraissent peu changés; l'intestin est rouge, le foie et la rate sont presque normaux. Le sang est peu modifié.

Les tissus de la tumeur, la sérosité qui en sort, les organes malades, renferment des Bactéries caractéristiques. Le sang n'en contient que peu ou même pas du tout avant la mort; leur nombre augmente après. La bile en contient des quantités considérables.

Les parties voisines de la lésion dégagent une odeur de beurre rance toute spéciale, signalée par Nocard et Moulé (1).

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Ce sont (fig. 252) des bâtonnets droits, mesurant en longueur de 5 μ à 8 μ avec une largeur de 1 μ, isolés ou parfois réunis par deux, mais ne formant jamais de grands filaments. Ils présentent une grande vivacité de mouvements et se distinguent par là aisément du *Bacillus anthracis*; c'est de là que proviennent les dénominations de *charbon bactérien* pour l'affection due au *Bacillus Chauvæi*, opposée à celle de *charbon bactéridien* appliquée au charbon vrai du *Bacillus anthracis*. L'air arrête ces mouvements. Les mouvements paraissent dus à des cils vibratiles que les méthodes de coloration spéciales montrent en petit nombre, quatre à huit, sur les côtés des bâtonnets. Les cils d'un même côté peuvent s'accoler pour former une grosse mèche ondulée. Beaucoup des bâtonnets renferment des spores. Ceux qui vont en produire se renflent irrégulièrement, tantôt sur toute leur longueur, tantôt en leur milieu seulement, en prenant une forme de fuseau, ou à l'une de leurs extrémités, ressemblant à un têtard ou à une baguette de tambour (fig. 253). La longueur de ces éléments sporifères peut atteindre 10 μ, avec une largeur de 1,1 μ à

(1) Nocard et Moulé, Les viandes à odeur de beurre rance (*Bull. de la Soc. centrale de méd. vét.*, 1889, p. 67).

1,3 μ; la spore ovoïde emplit d'ordinaire le tiers de la longueur de l'article. Souvent deux bâtonnets réunis produisent en même temps leurs spores, qui se trouvent alors aux deux extrémités opposées. Ces



Fig. 252. — *Bacillus Chauvæi* d'une culture sur gélose. 1000/1.

bâtonnets peuvent être entourés d'une mince auréole transparente, dans leur totalité ou seulement à leur extrémité renflée.

Kerry (1), Klein (2), Piana et Galli-Valerio (3) ont décrit des formes un peu différentes du même microbe, différant de la forme typique par des dimensions plus petites et la rareté des spores, le manque de virulence.

Coloration. — La coloration s'obtient assez facilement par les procédés ordinaires. Le microbe *reste coloré* par la méthode de Gram, mais à la condition de colorer très fortement avant de faire agir l'alcool. Les spores et les cils peuvent se colorer à l'aide des méthodes spéciales employées à cet effet.



Fig. 253. — *Bacillus Chauvæi* de la sérosité d'une tumeur du bœuf (d'après Arloing, Cornevin et Thomas) (Obj. 10, oc. 1 Vérick).

Cultures. — Cette Bactérie est une espèce anaérobie vraie; aussi ne se cultive-t-elle qu'en l'absence d'oxygène, dans le vide ou dans une atmosphère d'acide carbonique ou d'hydrogène. Cependant la présence

(1) Kerry, *Œsterreichische Zeitschr. für wissensch. Thierheilk.*, 1894.

(2) Klein, Ueber nicht virulenten Rauschbrand (*Centralbl. für Bakt.*, XVI, 1894, p. 950).

(3) Piana et Galli-Valerio, Sur une variété du *Bacterium Chauvæi* (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 258).

d'une très petite quantité d'air ne paraît pas être un obstacle absolu ; c'est un anaérobie moins exigeant que le *Vibrion septique*. Le développement commence vers 18°, mais se fait surtout bien à partir de 25°.

Les cultures se font bien dans du *bouillon* de poule ou de veau, auquel les auteurs précédents recommandent d'ajouter un peu de glycérine et une très faible quantité de sulfate ferreux. Kitasato (1) a employé le bouillon de cobaye. Le liquide se trouble en un jour, puis il se forme des flocons qui nagent dans sa masse. Il se produit des bulles de gaz qui s'amassent à la périphérie. L'odeur est celle de beurre rance. La culture se ferait mieux dans un milieu très légèrement acide ; en tout cas, elle se fait aussi bien dans les milieux acides que dans les neutres ou alcalins.

Kitasato (2) et après lui San Felice (3) ont obtenu des cultures sur *gélose* et *gélatine* en ensemençant ces milieux, dans un courant d'hydrogène, avec de la sérosité d'un cobaye mort après inoculation. Il est à recommander d'ajouter 1 à 2 p. 100 de glucose ou 4 à 5 p. 100 de glycérine ; les cultures se font mieux.

Les colonies qui se développent dans la *gélatine* sont d'abord de petites sphères irrégulières, à surface légèrement verruqueuse. Un peu plus tard, elles émettent des filaments radiaires et la gelée se liquéfie autour d'elles : elles montrent alors une partie centrale obscure et une couronne rayonnante à la périphérie. Lorsque ces colonies sont nombreuses et serrées les unes contre les autres, elles liquéfient lentement la gélatine avec production de gaz.

Dans la *gélose*, on observe une abondante production de gaz et une odeur acide pénétrante, rappelant l'odeur d'acide butyrique.

Dans les gelées additionnées de teinture de tournesol, la partie inférieure se décolore et les couches superficielles virent au rouge ; ce qui indique une action réductrice et une production d'acide.

Le *lait* est rapidement coagulé ; le liquide reste clair.

Propriétés biologiques.

Virulence. — Ces cultures ont, au début, une virulence égale à celle de la sérosité de la tumeur ou du sang qui contient des Bacilles ; leur pouvoir infectieux se maintient jusqu'à la troisième génération, s'atténue pendant les deux suivantes et finit par s'éteindre complètement.

La virulence résiste à un froid intense ; d'après les expériences de Pictet et Yung (4), elle subsiste malgré des froids de — 70° et — 130° maintenus pendant vingt-quatre heures, suivis d'un réchauffement lent. Des températures élevées ont une action plus funeste. La virulence se conserve longtemps à 65° dans l'air sec ; elle s'éteint au bout de deux heures vingt minutes à 70°, au bout de deux heures à 80° et en vingt

(1) Kitasato, Ueber den Rauschbrandbacillus und sein Culturverfahren (*Zeitschr. für Hygiene*, VI, 1889, p. 105).

(2) Kitasato, Ueber das Wachsthum des Rauschbrandbacillus in festen Nachrsubstratum (*Zeitschr. für Hygiene*, VIII, 1890, p. 55).

(3) San Felice, Untersuch. über anaeroben Mikroorganismen (*Zeitschr. für Hygiene*, XIV, 1893, p. 339).

(4) Pictet et Yung, De l'action du froid sur les microbes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCVIII, 1884, p. 747).

minutes à 100° : deux minutes d'immersion dans l'eau bouillante la font disparaître.

Si l'on prend la précaution de dessécher lentement vers 35° la matière virulente, elle garde beaucoup plus longtemps son activité ; le produit de la dessiccation garde sa virulence un ou deux ans, et, si on l'humecte au préalable, supporte des températures plus élevées que les précédentes ; il ne commence à s'atténuer à 85° qu'après six heures. En élevant progressivement la température à 90-95°, à 100°, 105°, on obtient des virus de plus en plus atténués; à 110°, la vitalité ne disparaît qu'au bout de six heures. Dans le même ordre d'idées, la putréfaction ne produit rien; les antiseptiques les plus énergiques sont seuls actifs.

La virulence d'un virus atténué peut revenir à son activité première et même augmenter, si l'on ajoute au virus un peu d'une solution d'acide lactique au cinquième. D'après Nocard et Roux (1), le fait serait dû à une altération légère que l'acide lactique détermine dans les tissus où le produit est injecté, altération qui favorise l'effet nuisible du parasite ; une simple meurtrissure produirait les mêmes résultats.

Roger (2) a observé qu'en associant le *Micrococcus prodigiosus* au *Bacillus Chauvæi*, ce dernier avait sa virulence exaltée et pouvait même faire périr les lapins, réfractaires aux inoculations ordinaires; le même fait se remarque, à un moindre degré toutefois, en associant au virus du charbon symptomatique le *Streptocoque pyogène*, le *Micrococcus pyogenes aureus* et le *Proteus vulgaris*.

Inoculation expérimentale.

Pour réussir avec les cultures, il est nécessaire d'en inoculer une quantité notable.

Les *bœufs* et les *moutons* comptent parmi les animaux les plus sensibles à la maladie ; ils meurent en général au bout de trente à soixante heures. Toutefois les *veaux* à la mamelle ou très jeunes possèdent une immunité relative. La maladie n'est pas inoculable au *lapin* ni à la *souris*. La *chèvre* résiste quelquefois.

Le *cobaye* périt d'ordinaire en deux ou trois jours ; mais à la longue, après plusieurs passages successifs dans son organisme, il ne peut plus se produire chez lui que des accidents locaux. L'inoculation faite dans les muscles de la cuisse produit, en quelques heures, une tumeur au point lésé; l'animal meurt en quarante-huit heures, parfois moins, en présentant des lésions musculaires très nettes, pouvant dégager l'odeur butyrique spéciale.

A l'autopsie, on trouve, au point d'inoculation, un œdème plus ou moins étendu, à sérosité rougeâtre, et des bulles gazeuses dans le tissu conjonctif. Les ganglions axillaires ou inguinaux sont tuméfiés. Le foie est légèrement hypérémié; les autres organes paraissent normaux.

Si l'on examine l'animal aussitôt après la mort, on ne trouve de

(1) Nocard et Roux, Sur la récupération et l'augmentation de la virulence de la Bactérie du charbon symptomatique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, p. 257).

(2) Roger, Sur l'inoculation du charbon symptomatique au lapin (*Soc. de Biol.*, 2 février et 30 mars 1889). Et : Étude expérimentale du charbon symptomatique (*Revue de méd.*, 1891, p. 169).

microbes que dans l'œdème de la région d'inoculation ; quelque temps après, on peut en rencontrer quelques-uns dans le sang et les organes; plusieurs heures après, les Bacilles peuvent être nombreux sur les coupes d'organes. On n'y rencontre jamais les longs filaments que forme dans les mêmes conditions le *Vibrion septique*.

L'*âne* et le *cheval* n'offrent qu'un engorgement douloureux des muscles et du tissu cellulaire de la région où a été faite l'inoculation. Le *chien*, le *chat*, le *porc*, le *rat d'égout*, la *poule*, le *canard*, le *pigeon*, semblent réfractaires.

Des *grenouilles* inoculées, maintenues en étuve à 22°, meurent de quinze à trente heures; le liquide des sacs lymphatiques renferme beaucoup de Bactéries et se montre très virulent.

Immunité.

Une atteinte non mortelle de la maladie confère une immunité dont la durée est en rapport avec l'intensité de cette première affection. Cette maladie amoindrie peut être provoquée par des virus atténués, ou des quantités plus fortes inoculées à des endroits doués d'une faible réceptivité, l'extrémité de la queue ou le pavillon de l'oreille, par exemple. On remarque une grande tolérance pour les injections de matières virulentes dans le système veineux ; elles occasionnent une sorte de maladie larvée qui rend les animaux réfractaires.

Ce sont les virus atténués par l'action de la chaleur qui sont les plus faciles à préparer et les plus sûrs. La matière virulente, culture ou surtout sérosité de la tumeur, est desséchée à une température de 32 à 35 degrés. On l'humecte et on la chauffe lentement et progressivement à partir de 80 degrés. Entre 100 et 104°, elle s'est beaucoup atténuée et donne un commencement d'immunité au mouton, au bœuf et au cobaye. On use ensuite d'un virus plus fort, qui n'a été chauffé qu'entre 85 et 90°, pour la renforcer. L'inoculation se fait en broyant la substance virulente dans un mortier avec de l'eau, de manière à la délayer parfaitement; la région choisie pour l'opération est la partie inférieure de la queue ou l'oreille.

Roux (1) a pu vacciner des cobayes en leur injectant dans le péritoine du bouillon de culture privé de Bactéries par un chauffage à 115° ou la filtration sur porcelaine. Le liquide stérilisé est injecté à la dose de 40 centimètres cubes, par trois fois, à deux jours d'intervalle. Les cobayes ainsi vaccinés contre le charbon symptomatique résistent souvent à l'inoculation du *Vibrion septique*, tandis que l'inverse ne s'est jamais présenté.

Duenschmann (2) n'est pas parvenu à vacciner le cobaye avec la toxine obtenue de cultures sur viande hachée. Il existerait, pour lui, dans la sérosité filtrée des lésions d'animaux morts du charbon symptomatique, et aussi dans les tumeurs d'animaux immunisés, une substance à action vaccinante. En renforçant, par des inoculations virulentes graduées, l'immunité naturelle des lapins, il a obtenu un sérum neutra-

(1) Roux, Immunité contre le charbon symptomatique conférée par des substances solubles (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, février 1888).

(2) Duenschmann, Étude expérimentale sur le charbon symptomatique et ses relations avec l'œdème malin (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 403).

lisant à l'égard de la toxine chez le cobaye. Kitt (1) a obtenu l'immunisation de moutons par injection d'assez fortes doses de sérum de moutons ayant résisté à des inoculations de virus.

Habitat et rôle étiologique.

Le virus doit se conserver dans le sol et s'inoculer par le contact de la terre.

Les bovidés sont surtout exposés à contracter le charbon symptomatique; le mouton et la chèvre sont rarement atteints, le cheval très exceptionnellement.

Jusqu'ici cette maladie n'a pas été observée chez l'homme, à moins qu'elle ne fasse partie du groupe mal délimité des *tumeurs charbonneuses*. Il est toutefois prudent, vu la gravité des symptômes énoncés, de rejeter absolument de la consommation la viande des bœufs qui en sont atteints et de recommander de prendre de grandes précautions pour la manier.

L'inoculation par la peau paraît être le mode de contage; cependant la muqueuse digestive se montre, expérimentalement, apte à la pénétration d'un virus fort.

Recherche et diagnostic.

Les préparations microscopiques faites avec la sérosité de la tumeur montrent les formes bacillaires bien spéciales; l'inoculation au cobaye pourra servir dans les cas douteux.

San Felice a isolé de la terre et d'infusions de viandes putrides un microbe très voisin comme caractères morphologiques, mais ne présentant aucune virulence (*Pseudo-Rauschbrand bacillus*). C'est le même probablement que Klein (2) a rencontré dans des cultures faites avec la rate d'un mouton charbonneux.

BACILLUS TYPHOSUS Eberth.

(*Bacille typhique, Bacille de la fièvre typhoïde, Bacille d'Eberth.*)

Atlas de microbiologie, pl. x et xi.

Coze et Feltz (3) ont décrit, dans le sang d'individus atteints de fièvre typhoïde, des bâtonnets mobiles, de 2 à 5 μ de long sur 0,4 μ de large, réunis souvent en courtes chaînes de trois ou quatre éléments. Mais les premières données certaines sur le microbe dont nous allons nous occuper sont celles d'Eberth (4) qui, dès 1880, signalait la présence, constatée par l'examen microscopique, dans bien des organes de typhiques, surtout la rate, les ganglions lymphatiques, les plaques

(1) Kitt, Ueber Rauchsbrandschutzimpfung mit Reinkulturen (*Monatsh. für Thierheilk.*, V, 1893, p. 19).

(2) Klein, Ueber nicht virulenten Rauchsbrand (*Centralbl. für Bakt.*, XVI, 1894, p. 950).

(3) Coze et Feltz, Rech. clin. et expér. sur les maladies infectieuses, 1872.

(4) Eberth, Die Organismen in den Organen bei Typhus abdominalis (*Virchow's Arch.*, LXXXI, 1880).

de Peyer, d'une espèce bactérienne qui par sa constance et la fixité de ses caractères lui semblait en rapport direct avec l'affection. Il n'apportait, du reste, aucune preuve à l'appui de son opinion. Cette découverte d'Eberth fut confirmée peu après par plusieurs observateurs, entre autres par R. Koch (1) qui donna, en 1881, d'excellentes photographies de préparations de foie et de rate de typhiques, montrant les amas microbiens signalés par le premier auteur.

L'honneur d'avoir précisé les caractères morphologiques et les conditions de développement du *Bacille typhique*, et d'avoir nettement établi les règles à suivre pour en constater la présence et l'isoler en cultures pures, revient certainement à Gaffky (2). D'autres observateurs sont venus confirmer les résultats annoncés par ce dernier et y ajouter d'intéressants détails; les recherches de Chantemesse et Widal (3) surtout ont mis en lumière bien des points de la plus grande importance, tant pour l'histoire naturelle du microbe que pour l'étiologie et la prophylaxie de l'affection qu'il occasionne. Le sujet a spécialement attiré un très grand nombre d'observateurs dont les travaux, pour les plus importants au moins, seront cités dans le cours de cet article. Lösener (4) donne, dans un bon travail, une bibliographie très complète des travaux parus sur ce sujet jusqu'en 1895.

Certains observateurs, Rodet et Gabriel Roux (de Lyon), surtout, se basant sur les ressemblances indéniables qui existent entre le *Bacille d'Eberth-Gaffky* et une espèce voisine, le *Bacillus coli communis* d'Escherisch (*Colibacille*), qui se trouve en abondance dans le contenu intestinal de l'homme, même à l'état normal, ont voulu identifier ces deux espèces en mettant sur le compte des conditions de milieu ou de vitalité la production de l'une ou l'autre de ces formes (5).

Il ne semble pas qu'on puisse se rattacher sans réserves à cette opinion, parce qu'il existe entre ces deux types certaines différences importantes dans leurs propriétés et leur manière d'agir dans l'organisme. On doit cependant reconnaître que ce sont deux espèces très voisines, issues peut-être d'une même souche originelle, saprophytique certainement, mais adaptées différemment de façon à constituer deux types distincts, pathologiquement surtout, sans qu'on puisse penser à leur transformation possible de l'une dans l'autre actuellement, comme le veulent les savants lyonnais pour qui le *Bacille d'Eberth* n'est qu'un *Colibacille* acquérant, sous certaines influences, des qualités particulières.

Quoi qu'il en soit, un observateur impartial est forcé de convenir

(1) Koch, Zur Unters. von pathogenen Organismen, pl. IX, fig. 52 et 53 (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881, p. 43).

(2) Gaffky, Zur Aetiologie der Abdominaltyphus (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, 1884, p. 372).

(3) Chantemesse et Widal, Recherches sur le Bacille typhique et l'étiologie de la fièvre typhoïde (*Arch. de phys.*, 1887, p. 17).

(4) Losener, Ueber das Vorkommen von Bakterien mit den Eigenschaften der Typhusbacillen in unserer Umgebung ohne nachweisbare Beziehungen zu Typhuserkrankung nebst Beiträgen zur bakteriologischen Diagnose des Typhusbacillus (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, XI, 1895, 2e p.).

(5) Rodet et G. Roux, Sur les relations du *Bacillus coli communis* avec le Bacille d'Eberth et avec la fièvre typhoïde (*Soc. de Biol.*, 21 février 1890). — Rodet, De la variabilité dans les microbes. Paris, J.-B. Baillière, 1894. — G. Roux, Les microbes pathogènes (*Traité de pathologie générale* de Bouchard, II, 1896, p. 542).

qu'il existe entre ces deux types des ressemblances considérables, ressemblances telles que parfois leur distinction peut devenir un problème délicat à résoudre. Ces ressemblances justifient l'étude simultanée de ces deux microbes qu'il est difficile de séparer.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les éléments du *Bacille typhique* (fig. 254) sont des bâtonnets cylindriques, le plus souvent isolés ou réunis par deux, à extrémités arrondies, mesurant en moyenne de 2 μ à 3 μ de long sur 0,7 à 0,9 μ de large. Le contenu est homogène, hyalin ; parfois, dans les cultures âgées surtout, on aperçoit vers le milieu du bâtonnet principalement ou à l'une des extrémités, un espace clair, une vacuole ovoïde, qui a surtout été signalée par Artaud (1) et prise par beaucoup pour une spore. La plupart du temps, les bâtonnets qui présentent cet aspect sont légèrement renflés au milieu, ont une forme en navette, ce qui ajoute encore à l'illusion. Cette forme est due à la rétraction du protoplasme qui se condense aux deux pôles ; elle se rencontre du reste chez beaucoup d'autres espèces et n'a rien de caractéristique. C'est un processus de dégénérescence qu'on peut provoquer en faisant vivre le microbe dans un milieu moins favorable, milieu légèrement phéniqué par exemple. Büchner (2) et Pfuhl (3) ont démontré que ces formes résistaient moins à la chaleur que les simples éléments normaux; elles sont toujours tuées par une exposition de vingt minutes à la température humide de 60°.

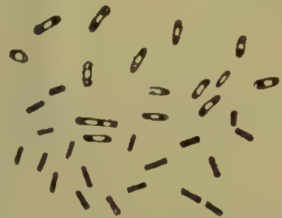


Fig. 254. — *Bacille typhique* dans les cultures.

Les dimensions, dont nous avons donné la moyenne, varient suivant le milieu de culture. Dans les bouillons, les bâtonnets deviennent plus grêles ; sur les milieux solides, ils sont plus épais ; dans les cultures sur pomme de terre ou les vieilles cultures sur gélatine, on peut les voir former des filaments souvent assez longs, onduleux même (fig. 255).

Dans de très jeunes cultures, les bâtonnets sont très courts, à peine plus longs que larges.



Fig. 255. — *Bacille typhique* d'une culture sur pomme de terre.

Les bâtonnets sont généralement très mobiles; ils présentent un mouvement latéral d'oscillation et un mouvement rapide de déplacement longitudinal; ils traversent souvent avec rapidité le champ du microscope. Les filaments ne présentent guère qu'une sorte de reptation. La motilité peut s'atténuer chez certains types.

La motilité est due à la présence de cils vibratiles, longs et ondulés, que les méthodes de coloration spéciales montrent exister au nombre

(1) Artaud, Étude sur l'étiologie de la fièvre typhoïde. Paris, 1887.

(2) Buchner, Ueber die vermeintlichen Sporen der Typhusbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, IV, 1888, p. 353).

(3) Pfuhl, Die Sporenbildung der Typhusbacillen (*Ibid.*, p. 769).

de huit à quatorze, quelquefois plus, sur les côtés et aux extrémités des bâtonnets (fig. 256) (1), tantôt répartis uniformément sur les bâtonnets, tantôt groupés aux extrémités.



Fig. 256. — *Bacille typhique* avec cils vibratiles.

Gaffky, Chantemesse et Widal ont décrit une formation de spores dans des cultures sur pommes de terre laissées pendant quatre ou cinq jours à une température de 38° à 40°. Sphériques ou légèrement ovoïdes, elles se formeraient aux extrémités des bâtonnets (fig. 257). Il est prouvé aujourd'hui que ce sont des formes de dégénérescence qui n'ont rien de commun avec de vraies spores. Dans le cas particulier, elles sont dues à l'acidité du milieu ; il suffit d'user de pommes de terre alcalines pour ne plus observer cet aspect. De tels éléments ne montrent pas, du reste, de plus grande résistance à la chaleur.



Fig. 257. — *Bacille typhique* avec prétendues spores (d'après Chantemesse et Widal).

Coloration. — Le *Bacille typhique*, bien que se colorant par les procédés ordinaires, n'absorbe pas d'une façon très intense les couleurs d'aniline. Pour l'avoir bien coloré, il ne faut pas laver à grande eau les préparations colorées, mais enlever l'excès de colorant avec un morceau de papier buvard. Les plus belles colorations s'obtiennent avec la fuchsine phéniquée de Ziehl. On peut renforcer l'action du colorant par un léger chauffage. Il se *décolore* constamment et facilement par la méthode de Gram.

Cultures. — Le *Bacille typhique* se cultive aisément sur tous les milieux habituels. Le développement se fait bien à assez basse température ; d'après Seitz (2), il est déjà sensible à 4°. L'optimum de tempé-

(1) Remy et Sugg, Recherches sur le Bacille d'Eberth-Gaffky (*Travaux du laboratoire d'hygiène et de bactériologie de l'Université de Gand*, 1893).
(2) Seitz, Bakteriologische Studien zur Typhusaetiologie. Leipzig, 1886.

rature serait, d'après Chantemesse et Widal, entre 25° et 35°. La végétation ne s'arrête qu'à 46 degrés.

Cette espèce est loin d'être exigeante au point de vue de l'oxygène : c'est un anaérobie facultatif. On obtient des cultures dans le vide ; elles sont toutefois peu abondantes et ne progressent que lentement.

La semence destinée à donner des cultures peut se prendre à l'autopsie dans un organe atteint ou sur le typhique vivant.

Dans le premier cas, il est à recommander de choisir la rate où le microbe pathogène se trouve d'ordinaire en abondance et souvent seul quand le moment de la mort n'est pas trop éloigné. On ne peut que recommander de suivre à la lettre les indications données à ce sujet par Gaffky. L'organe, recueilli le plus tôt possible après la mort, est lavé à la surface avec une solution de sublimé à 1 p. 1000. Une première coupe est faite perpendiculairement à la surface avec un scalpel brûlant ; elle doit intéresser presque toute l'épaisseur de l'organe. A l'aide d'un autre scalpel refroidi, on fait, sur la coupe ainsi obtenue, une seconde section perpendiculaire à la première ; une troisième coupe, faite avec un nouvel instrument, met à découvert des couches plus profondes dans lesquelles on recueille, avec des fils de platine stérilisés, du suc destiné à être ensemencé.

Sur le vivant, la ponction de la rate est la seule méthode qui puisse fournir de quoi ensemencer assez sûrement des milieux. Bien que très préconisée par quelques-uns, c'est un procédé qui n'est pas à conseiller, parce qu'il peut n'être pas sans danger pour le malade. On trouvera page 248 la marche à suivre en pareil cas.

La matière d'ensemencement obtenue, on prépare des cultures sur les différents milieux par les méthodes habituelles.

Les cultures n'exhalent *jamais aucune odeur*.

CULTURES SUR PLAQUES DE GÉLATINE. — Avec de la gélatine habituelle à 6 p. 100 au moins, les colonies apparaissent en vingt-quatre à quarante-huit heures, à une température d'environ 18°, comme de petits disques arrondis, transparents, de teinte légèrement jaunâtre à un faible grossissement, à bords nets. A un grossissement un peu plus fort, 40 diamètres par exemple, on leur reconnaît souvent des sillons bien marqués et assez réguliers, fragmentant la surface, de la périphérie vers le centre, en secteurs inégaux ; cette particularité n'a rien de spécial ; on la retrouve chez beaucoup d'autres espèces. Les colonies qui se trouvent dans les couches profondes de la gelée gardent ces caractères ; elles grossissent peu et ont une forme ronde ou ovalaire. Celles qui arrivent à la surface changent très vite d'aspect ; elles s'y étalent en petits amas irréguliers, à bords sinueux ou découpés comme les côtes d'une île, minces, bleuâtres, irisés, transparents, qu'on ne peut mieux décrire qu'en les comparant à de petites montagnes de glace surbaissées (fig. 258 et 259). Leur surface tourmentée rappelle assez bien la surface externe d'une

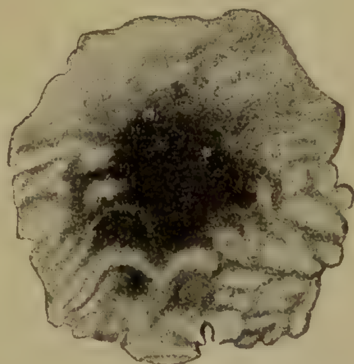


Fig. 258. — Aspect d'une colonie de *Bacille typhique*, obtenue du sang de la rate d'un typhique, en culture sur plaques après cinq jours (d'après une photographie). 60/1.

coquille d'huître. La surface peut être comme vermiculée, semblable aux circonvolutions d'un intestin grêle réuni en paquet. D'autres fois, ces colonies sont plus épaisses, opaques, à bords moins sinueux ou même presque régulièrement circulaires. La dimension des colonies

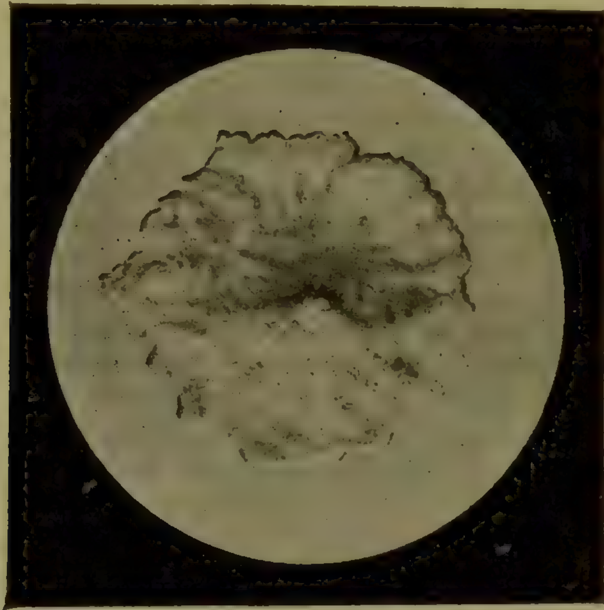


Fig. 259. — Culture sur plaques de gélatine du *Bacille typhique*. Colonie en forme de montagne de glace, âgée de six jours (d'après une photographie). 60/1.

varie ; du troisième au cinquième jour, à une température de 15° environ, elles atteignent de 3 à 4 millimètres de diamètre ; plus tard, les dimensions n'augmentent guère, les colonies restent stationnaires. La gélatine n'est *jamais liquéfiée*.

En usant de milieux dont la teneur en gélatine est beaucoup plus faible que celle qui est employée habituellement, les résultats que l'on obtient au point de vue de l'aspect des colonies sont notablement différents. Dans des gelées contenant 2,5 à 3, 3 p. 100 de gélatine, en faisant les cultures à la température ordinaire, vers 15°, les colonies n'ont plus l'aspect qui vient d'être décrit, mais, comme l'ont montré Rosenthal (1) et Klie (2), deviennent bosselées, perdent leur transparence et prennent un aspect filamenteux, puis émettent dans divers sens des prolongements plus ou moins ténus, souvent longs et sinueux, contournés, rappelant un peu l'aspect des colonies de *Proteus*. D'autres fois, la masse centrale s'entoure d'une simple auréole laiteuse. Ces phénomènes s'expliquent très bien par le peu de résistance que la gelée offre aux Bacilles mobiles qui peuvent ainsi fuser dans divers sens. C'est la seule interprétation qu'on doive leur donner. Ce qui vient corroborer cette opinion, c'est qu'on obtient ces résultats d'autant plus marqués qu'on met les

(1) W. Rosenthal, Beobachtungen über die Variabilität der Bakterienverbände und der Colonieformen unter verschiedenen physikalischen Bedingungen (*Deutsche Arch. für klin. Med.*, LV, 1895).

(2) Klie, Untersuchungen des Wachstums von *Bacillus typhi abdominalis* und *Bacillus coli commune* in Nährböden mit verschiedenen Procentgehalt an Gelatine bei verschiedenen Temperaturen (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 49).

cultures à des températures plus élevées, c'est-à-dire qu'on rend la gelée moins consistante. On peut, du reste, remarquer des faits analogues avec des gelées plus fortes, même à 10 p. 100, en les exposant à une température voisine de leur point de liquéfaction ; ils sont toujours dus au déplacement très facile des éléments mobiles ; le microbe s'y comporte un peu comme dans un milieu liquide.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre*, dans un tube de gélatine, il se forme dans le canal de petites colonies d'un blanc jaunâtre, accolées les unes aux autres, et à la surface une pellicule mince, transparente ou un peu opaque, à bords sinueux, rappelant l'aspect des colonies sur plaques, qui peut s'étendre jusqu'aux parois du tube, ou, plus souvent, reste localisée aux environs de la piqûre. Les couches supérieures de la gelée peuvent se colorer en brun ; on voit parfois de petits amas de cristaux se former le long de la piqûre. En *strie*, les caractères sont encore moins constants. C'est tantôt une mince couche homogène, bleuâtre, presque transparente, un peu laiteuse, à reflets nacrés, à bords sinueux, ne s'étendant que peu de chaque côté de la strie d'inoculation ; tantôt une culture d'un blanc sale, plus épaisse. Ces colonies se détachent facilement de la surface de la gelée ; lorsqu'on enlève complètement une culture, à l'aide d'une petite spatule de platine, et qu'on ensemence à la même place avec de la nouvelle matière d'inoculation, on n'observe plus aucun développement ; la gelée est comme *vaccinée*, disent Chantemesse et Widal. Les cultures sur gélatine ne dégagent aucune odeur et la gelée n'est jamais liquéfiée.

Cultures sur gélatine a la décoction de malt. — La culture est peu abondante ; ce n'est le plus souvent qu'un mince trait blanchâtre sur la strie d'inoculation.

Cultures sur gélose. — Sur gélose, et surtout sur gélose glycérinée, la végétation est beaucoup plus abondante ; on obtient au bout de quelques jours, vers 37°, une culture blanche, homogène, assez épaisse, d'aspect crémeux, parfois un peu nacrée.

Cultures sur sérum. — Sur sérum coagulé, il se forme sur la strie une bande blanche à reflets gris un peu bleuâtre, s'étendant peu de chaque côté.

Cultures sur pomme de terre. — Les cultures sur pomme de terre sont souvent plus caractéristiques. Elles doivent être, pour cette raison, un complément indispensable de toute recherche du *Bacille typhique*. L'inoculation peut s'y faire en strie ou en étendant sur la surface de la tranche la matière d'inoculation à l'aide du plat d'un scalpel stérilisé ou d'une petite spatule de platine. Au bout d'un à deux jours, à l'étuve, il ne s'est pas produit de culture apparente ; la surface de la pomme de terre, vue de côté, paraît humide, brillante, comme vernissée. En raclant la couche supérieure, on enlève une sorte de glaire muqueuse englobant des parcelles du tubercule, qui, examinée au microscope, laisse voir une quantité de Bactéries. Après un temps plus long, il se forme une mince couche un peu jaunâtre, parfois difficile à voir ; on peut même observer une sorte de glaçure légèrement proéminente. Gaffky donne aussi comme caractéristique la sensation spéciale qu'offre au toucher la surface de la pomme de terre qui ne montre pas de culture apparente ; elle se comporte sous le doigt comme si elle était recouverte d'une membrane assez résistante, parcheminée. Les caractères de

ces cultures sur pomme de terre sont loin d'être aussi constants qu'on l'a voulu pendant longtemps; ils peuvent varier suivant la nature de la pomme de terre; les meilleures sont celles dites grasses. Fréquemment, au bout de quelques jours, la culture devient nettement visible, prend une teinte bistre et une épaisseur plus grande. J'ai signalé ce fait depuis longtemps; on l'observe aussi bien avec du Bacille retiré de la rate de typhiques qu'avec celui isolé de milieux naturels. Vaillard pense que ces colonies colorées viennent d'un *Bacille typhique* qui a souffert, provenant par exemple de typhiques dont la maladie a été longue. Büchner dit qu'on obtient toujours cette forme de culture avec les pommes de terre rendues alcalines par trempage dans une eau additionnée d'un peu de carbonate de soude.

Sur ce milieu, les Bacilles sont un peu plus larges et donnent facilement des filaments. On observe aussi souvent des éléments à vacuoles dont il a été parlé précédemment.

Cultures dans le bouillon. — Dans le bouillon, le développement est rapide de 30° à 35°; en un jour, et parfois moins, le liquide est complètement troublé. En agitant le tube et en regardant par transparence, on voit se former dans le liquide des ondulations qui lui donnent un aspect moiré bien évident. Il se dépose un sédiment blanc, léger et quelquefois des flocons d'un blanc noirâtre. Il ne se forme jamais de voile. Le liquide brunit un peu et ne s'éclaircit qu'après un temps assez long.

Dans le *bouillon glucosé à 2 p. 100*, on peut observer une minime fermentation décelée par la production de quelques fines bulles de gaz; le glucose est un peu attaqué et donne une petite quantité d'acide lactique (Dubief).

Dans le *bouillon lactosé à 2 p. 100*, additionné d'un peu de craie, il n'y a pas de fermentation de la matière sucrée; les bulles de gaz font toujours défaut. Malvoz dit cependant avoir observé plusieurs fois la production de très fines bulles de gaz, indiquant l'existence d'une fermentation lactique. Tous les autres expérimentateurs affirment le contraire; ce dernier aurait peut-être employé du sucre de lait contenant un peu de glucose; certains sucres de lait donnent facilement un peu de glucose lorsqu'on les chauffe à 100° et plus.

Dans le *bouillon saccharosé à 2 p. 100*, il ne se produit aucune modification spéciale.

Cultures dans le lait. — Le lait est un très bon terrain de culture pour le *Bacille typhique*; il y pullule abondamment à une température convenable, sans apporter aucun changement visible au milieu. Le lait n'est pas coagulé, même après plusieurs mois; il y a cependant production de traces d'acide lactique d'après Dubief (1).

Dans le *lactosérum artificiel* de Bordas et Joulin (p. 174), la culture se fait très bien; le liquide se trouble uniformément, mais on n'observe aucun indice de coagulation.

Cultures sur artichaut. — Sur les artichauts préparés comme il a été dit page 193, le *Bacille typhique* ne donne pas de culture apparente et surtout ne modifie en rien la nuance du milieu; il ne donne jamais la coloration verte qui s'observe si souvent très marquée avec la plupart

(1) Dubief, Sur la biologie comparée du Bacille typhique et du *Bacillus coli communis* (*Soc. de Biol.*, 17 octobre 1891, p. 675).

des types de *Colibacilles*. C'est un très bon élément de diagnostic.

Cultures dans les milieux colorés. — Lorsqu'on cultive cette espèce sur des milieux colorés avec des couleurs d'aniline, on voit le développement se faire comme sur ces milieux simples et la culture se colorer peu à peu en absorbant la couleur du milieu, qui se décolore partiellement ou en totalité.

D'Abundo (1) remarqua le premier qu'une culture faite dans un bouillon teinté avec un peu de fuchsine, de bleu de méthylène ou de brun de Bismarck, décolorait le liquide en peu de jours et que les microbes prenaient la matière colorante.

Noeggerath (2) a cherché à appliquer cette particularité au diagnostic du *Bacille typhique* et surtout à sa distinction d'espèces morphologiquement très voisines qui se rencontrent fréquemment dans les milieux où l'on recherche ce microbe, le *Colibacille* particulièrement. Il colore les milieux à l'aide du mélange suivant :

Solution aqueuse saturée de	bleu de méthylène.	2 centimètres cubes.
— —	violet de gentiane..	4 —
— —	vert de méthyle...	1 centimètre cube.
— —	chrysoïdine.......	3 centimètres cubes.
— —	fuchsine..........	4 —
Eau distillée	....	200 —

Le liquide obtenu colore le papier à filtrer blanc en gris foncé ou bleu noirâtre. On le laisse reposer quinze jours avant de s'en servir. Puis on le ramène à peu près à sa coloration primitive en ajoutant un peu de l'une ou l'autre couleur.

On ajoute de sept à dix gouttes de ce liquide à un tube contenant une dizaine de centimètres cubes de gélatine fondue ; on coule cette gélatine sur plaques et on fait à sa surface, lorsqu'elle est solidifiée, des ensemencements en strie. La culture, en se développant, fixe la couleur qu'elle prend à la gelée ambiante qu'elle décolore. Les cultures du *Bacille typhique*, dans ces conditions, doivent prendre une teinte violet-évêque.

D'après Gasser (3), ce procédé donnerait des résultats incertains. Il est de beaucoup préférable, selon lui, d'user de *gélose fuchsinée* (gélose ordinaire additionnée avant stérilisation de quelques gouttes de fuchsine), à la surface de laquelle on fait des ensemencements en strie. Dans de telles préparations, à 39°, au bout de vingt-quatre heures la culture est déjà très apparente et la gélose commence à se décolorer autour d'elle. En deux jours, la culture a pris une teinte rouge bien accentuée, en même temps que la coloration gagne du terrain. Six ou huit jours après, toute la gélose est décolorée, la culture est fortement colorée. Malheureusement, les résultats ne sont pas toujours bien constants ; la nature, très variable, de la fuchsine employée est pour beaucoup dans ces différences.

(1) D'Abundo, *La Riforma medica*, décembre 1887.

(2) Noeggerath, Ueber eine neue Methode der Bakterienzüchtung auf gefärbten Nährmedien zu diagnostischen Zwecken (*Fortschr. der Med.*, VI, 1888, p. 1).

(3) Gasser, Études bactériologiques sur l'étiologie de la fièvre typhoïde. Thèse de Paris, 1890 ; et : Culture du Bacille typhique sur milieux nutritifs colorés (*Arch. de méd. expér.*, II, 1890, p. 750).

Ces caractères de cultures dans de tels milieux peuvent, nous le verrons plus loin, être d'un certain secours pour la diagnose du *Bacille typhique* et d'autres espèces voisines.

Sur la gélose ou la gélatine lactosées à 2 p. 100 et additionnées de quelques gouttes de teinture de tournesol bleue, le *Bacille typhique* se développe sans modifier la coloration de la surface du milieu, parce qu'il n'occasionne pas de fermentation lactique du sucre de lait. C'est un excellent moyen de distinguer ce microbe d'espèces voisines, surtout du *Colibacille* qui, produisant rapidement de l'acide lactique dans ces conditions, fait virer la teinte au rouge (Würtz) (1). On observe les mêmes phénomènes avec le bouillon lactosé, additionné de quelques gouttes de teinture bleue de tournesol.

La phénolphtaléine et la rubine acide de Ramond (Voy. p. 730) donneraient de meilleurs résultats.

Rothberger (2) a étudié les caractères du développement du *Bacille typhique* sur les milieux colorés à l'aide d'un grand nombre de matières colorantes dérivées de l'aniline; ces caractères servant uniquement à la différenciation avec le *Colibacille* seront exposés en partie plus loin lors de l'étude de cette question particulière (p. 733).

Cultures dans les milieux chimiquement définis. — Les milieux minéraux ne paraissent pas être des milieux de culture bien favorables pour le *Bacille typhique*. Les liquides de Cohn et de Naegeli, exclusivement minéraux, ne montrent pour ainsi dire pas de développement. L'addition de glucoses rend la végétation possible; il en est de même en ajoutant certains corps amidés, asparagine, leucine, urée (3), comme dans les milieux cités pages 173 et 174. Le trouble est plus ou moins abondant suivant le cas.

Cultures dans d'autres milieux. — L'urine stérilisée, la bouillie de viande stérilisée, donnent de bons résultats pour les cultures, sans toutefois montrer aucun caractère spécial; les cultures sur *viande* ne développent pas d'odeur.

Freudenreich (4), dans un intéressant travail, a étudié la façon dont le *Bacille typhique* se comporte, lorsqu'on l'ensemence dans des bouillons de cultures d'autres Bactéries, filtrés sur bougie Chamberland pour les débarrasser de tout microbe. Il a observé qu'il ne se développe pas du tout dans les bouillons des *Staphylococcus pyogenes albus*, *Staphylococcus pyogenes fœtidus*, *Bacillus pyocyaneus*, *Bacillus phosphorescens*. Il pousse très faiblement dans les bouillons où ont vécu les *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Bacille du choléra des poules*, *Pneumobacille de Friedlaender*, *Spirille de Miller*, le *Bacille typhique* lui-même; faiblement dans ceux du *Spirille du choléra* et du *Spirille de Denecke*. Il végète normalement dans le bouillon du *Spirille de Finckler*.

(1) Wurtz, Note sur deux caractères différentiels entre le Bacille d'Eberth et le *Bacterium coli commune* (*Arch. de méd. expér.*, IV, 1892, p. 85).

(2) Rothberger, Differentialdiagnostische Untersuchungen mit gefärbten Nährböden (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 513, et XXV, 1899, p. 15 et 69).

(3) Remy et Sugg, Recherches sur le Bacille d'Eberth-Gaffky. Du diagnostic du Bacille d'Eberth-Gaffky et des caractères qui le distinguent des microorganismes pseudotyphiques (*Travaux du laboratoire d'hyg. et de bactér. de l'Université de Gand*, I, 1893).

(4) Freudenreich, De l'antagonisme des Bactéries et de l'immunité qu'il confère aux milieux de culture (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, II, 1888, p. 200).

Réensemencement sur les anciennes cultures. — Après avoir enlevé, avec un fil de platine recourbé, toute la culture, qui s'est développée sur un tube incliné de gélatine ou de gélose, si l'on vient à ensemencer cette surface avec du *Bacille typhique*, aucune nouvelle culture ne se produira. Le *Colibacille* et d'autres Bactéries voisines poussent au contraire bien dans les mêmes conditions. C'est encore un caractère utilisable pour la diagnose.

Propriétés biologiques.

Vitalité. — Dans les conditions ordinaires, le *Bacille typhique* paraît assez résistant. Il paraît pouvoir rester vivant assez longtemps dans le milieu extérieur, l'eau et le sol surtout, comme il sera dit plus loin. Il résiste longtemps à la congélation de l'eau dans laquelle il se trouve; les alternatives de congélation et de liquéfaction le font vite périr; le fait est peut-être dû à une végétation qui se produit dans les périodes de dégel.

L'action d'autres conditions de milieu sur la vitalité sera étudiée plus loin (p. 690).

Virulence. — Elle est incontestable. Les produits typhiques recueillis dans la rate des cadavres ou sur des malades de fièvre typhoïde ne peuvent être utilisés à ce point de vue que s'ils sont suffisamment purs. Dans ce cas, ils ne sont que peu virulents pour les animaux d'expérience; en inoculation sous-cutanée, ils se montrent très peu actifs; ils sont plus virulents en inoculation intrapéritonéale. Les cultures des laboratoires sont très souvent inoffensives. Il est cependant possible d'exalter cette virulence, lorsqu'elle existe. Nous étudierons avec détails cette question en parlant de l'inoculation expérimentale (p. 694).

Produits formés dans les cultures. — Les modifications que le *Bacille typhique* peut faire subir aux divers milieux de cultures dans lesquels il croît sont en général peu marquées. Ce microbe ne paraît pas produire de diastases bien actives; comme conséquence, la transformation des divers principes nutritifs est minime ou ne s'opère pas.

Les matières albuminoïdes ne paraissent pas subir de transformation appréciable; la gélatine n'est pas modifiée, ce qui indique l'absence de production de ferments spéciaux, pepsine et trypsine surtout.

Les sucres sont peu attaqués. Le pouvoir fermentatif que possède à leur égard le *Bacille typhique* varie avec leur nature.

Le glucose entre nettement en fermentation, comme le montrent les recherches de Dubief (1) et de Péré (2) principalement. Il se dégage de petites bulles gazeuses qui sont de l'acide carbonique et il se forme de l'acide lactique lévogyre ou de l'acide lactique inactif.

Le saccharose n'est pas attaqué.

Le lactose ne subit aucun changement. Certains auteurs prétendent qu'il se forme à ses dépens un peu d'acide lactique, mais il semble que

(1) Dubief, Bacille typhique et *Bacillus coli communis*; biologie comparée (*Soc. de Biol.*, 1891, p. 675).

(2) Péré, Contribution à la biologie du *Bacterium coli commune* et du Bacille typhique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 512).

ce soit à tort; il est probable que souvent, dans la stérilisation à la chaleur, un peu de lactose se transforme en glucose.

D'après Cappaldi et Proskauer (1), la mannite pourrait fermenter et donner de l'acide lactique dans les milieux où elle se trouve avec une substance azotée assimilable par le microbe, comme la peptone de Witte, et pas dans ceux qui ne renferment qu'une substance azotée inutilisable pour lui, comme l'asparagine.

Pour Hellstrom (2), tous les monosaccharides, glucose, galactose et fructose, seraient attaqués directement ; les disaccharides, saccharose, lactose et maltose, seraient transformés également, mais seulement après leur inversion qui pourrait être lente à s'opérer et ne se faire que dans certaines conditions, en milieu acide pour le lactose par exemple.

L'urée n'est pas attaquée, comme l'ont montré Gorini (3) et Kashida (4).

D'après Morris (p. 262) et Orlowski (5), on pourrait constater dans les cultures une production rapide d'hydrogène sulfuré, fait nié par d'autres auteurs.

Hugounencq et Doyon (6) ont montré que le *Bacille typhique* pouvait déterminer la fermentation des nitrates avec dégagement d'azote gazeux. En renversant sur la cuve à mercure un tube plein de bouillon additionné de 1,5 p. 100 de nitrate de potasse, ensemencé avec le microbe, on peut obtenir en peu de temps plusieurs centimètres cubes d'azote. C'est donc un microbe nettement dénitrifiant, comme le *Colibacille*, du reste, qui présente la même propriété. Grimbert (7) a observé que le dégagement d'azote ne se faisait pas lorsqu'on employait une solution de peptone à 1 p. 100 additionnée de nitrate de potasse à 1 p. 100 ; de plus, dans le bouillon nitraté, le volume d'azote dégagé est au moins le double de celui qui correspond à l'azotate détruit ; ce qui démontre que l'azote dégagé ne provient pas exclusivement des nitrates. Cette action dénitrifiante serait corrélative de la présence de substances amidées ; elle semble résulter de l'action secondaire exercée sur ces substances par l'acide nitreux provenant de l'attaque du nitrate par le microbe. D'après ce dernier auteur, ce dégagement d'azote s'observe tout aussi bien, et même d'une façon plus intense, avec les nitrites.

Les cultures, même très âgées, *ne donnent jamais la réaction de l'indol* ; c'est là un caractère important pour la diagnose.

(1) Cappaldi et Proskauer, Beiträge zur Kenntniss der Saürebilbung bei Typhusbacillus und Bacillus coli (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIII, 1896, p. 452).

(2) Hellstrom, Ueber die Reactionsveranderungen und Vitalitätsverhaltnisse des Bacillus typhi abdominalis und Bacterium coli commune in Bouillon mit einigen mono- und disacchariden. Helsingfors, 1897.

(3) Gorini, Sopra un nuovo criterio diagnostico del Bacillo del Tifo (*Giorn. della Real. Soc. ital. d'Igiene*, 1894, n° 7).

(4) Kashida, Differenzierung der Typhusbacillen vom Bacterium coli commune durch die Ammoniakreaktion (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 802).

(5) Orlowski, Beitrag zur Kenntniss der biologischen und pathogenen Eigenschaften des Bacterium coli commune (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 134).

(6) Hugounencq et Doyon, Nouvelle fonction chimique commune au *Bacillus coli* et au Bacille d'Eberth (*Soc. de Biol.*, 20 février 1897). — *Id.*, Action du Bacille d'Eberth sur les nitrates (*Ibid.*, 11 juin 1898).

(7) Grimbert, A propos de l'action du B. d'Eberth et du *B. coli* sur les nitrates (*Soc. de Biol.*, 18 juin 1898). — *Id.*, Action du *B. coli* et du B. d'Eberth sur les nitrates (*Ibid.*, 10 décembre 1898). — *Id.*, Action du *B. coli* et du B. d'Eberth sur les nitrates (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 67).

Elles ne développent jamais d'odeur et ne montrent pas d'autre formation de pigment que cette teinte brunâtre qui se produit quelquefois dans des cultures sur gélatine.

Les produits de beaucoup les plus intéressants de ceux qui se forment dans les cultures sont ceux qui sont doués d'une certaine activité sur l'organisme et peuvent jouer un rôle dans l'infection typhique. Il existe bien certainement un *poison typhique* qui doit se rapprocher par sa nature des poisons tétanique et diphtérique ; on ne peut encore aujourd'hui qu'en soupçonner l'existence.

Brieger (1) a extrait de vieilles cultures de *Bacille typhique* une ptomaïne, n'existant qu'en proportion très faible dans les milieux, qui lui a paru posséder une action toxique très marquée. Il l'a appelée *typhotoxine*. Les principaux symptômes déterminés chez les cobayes par son inoculation à doses minimes étaient une faiblesse excessive, une diminution progressive de la respiration et des battements du cœur, une diarrhée séreuse très abondante; la mort survient de douze à quarante-huit heures. Luff (2) dit avoir pu isoler cette même substance et déterminer ses caractères. D'après lui, cette typhotoxine pure est une poudre blanche cristalline. Son chlorhydrate, en solution, précipite en blanc par l'acide phospho-molybdique, en jaune avec l'acide picrique et le chlorure d'or, en brun foncé avec une solution d'iode, en jaune foncé avec le tannin; il ne se produit pas de réaction avec l'acide phospho-tungstique. Des recherches nouvelles paraissent prouver que cette typhotoxine, comme d'autres ptomaïnes de Brieger, ne préexistent pas telles quelles dans le produit sur lequel on opère, mais proviennent de décompositions secondaires de matières albuminoïdes existant dans ce produit, peptones ou albumines microbiennes.

Brieger et Fraenkel (3) ont plus tard isolé une toxalbumine des bouillons de cultures. Ces bouillons, concentrés au tiers dans le vide à 30°, sont traités par dix fois leur volume d'alcool à 95° et quelques gouttes d'acide acétique. Le précipité produit est dissous dans l'eau; on ajoute du sulfate d'ammoniaque à saturation et on soumet à la dialyse. La partie dialysée s'est montrée sans action sur les animaux; celle restée dans le dialyseur donne les réactions des matières albuminoïdes et possède un pouvoir toxique assez faible pour les cobayes, plus marqué pour les lapins qui meurent en quelques jours.

C'est tout ce qu'on sait actuellement sur la nature exacte du poison typhique. Il existe cependant en proportion notable dans les bouillons de cultures actives, comme le montrent les recherches de Sanarelli (4), qui, se basant sur ce que la toxicité des bouillons augmente avec la durée du contact de ces liquides avec les microbes, croit pouvoir affirmer que la substance toxique se trouve dans les corps mêmes des microbes et qu'elle est lentement extraite par le liquide alcalin

(1) Brieger, Weitere Untersuchungen über Ptomaïne. Berlin, 1885. Traduit *in* : Brieger, Microbes, ptomaïnes et maladies (traduction par Roussy et Winter. Paris, Doin, 1887).

(2) Luff, *British med. Journ.*, 27 juillet 1889.

(3) Brieger et Fraenkel, Untersuchungen über Bacteriengifte (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1890).

(4) Sanarelli, Études sur la fièvre typhoïde expérimentale, 2e mémoire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 193).

dans lequel ils macèrent. Des détails sur cette toxine brute seront donnés plus loin (p. 698).

Pour Rodet (1), au contraire, les corps bacillaires, tués par la chaleur, ne sont presque pas toxiques. De plus, les effets qu'ils déterminent sont différents de ceux occasionnés par les produits solubles des bouillons de culture; ils sont nettement pyogènes, alors que les produits solubles sont pyrétogènes, vaso-dilatateurs et phlogogènes.

Chantemesse (2) a obtenu une toxine brute plus active que celle de Sanarelli en cultivant un Bacille très virulent dans une solution de peptone de rate, comme il sera dit plus loin (p. 699). Le chauffage à 58° pendant une heure ne modifie pas l'activité du liquide; à 100°, pendant un instant, la toxicité est diminuée mais pas supprimée; l'acidification par l'acide tartrique fait disparaître presque totalement la virulence qui revient, en partie seulement, par neutralisation à la soude. Le noir animal retient très énergiquement la substance active.

Il est facile de se rendre compte que dans les milieux de cultures le *Bacille typhique* ne produit que lentement une petite quantité de substances toxiques, alors que dans l'organisme humain infecté la sécrétion du poison est rapide et abondante, comme le démontrent les graves symptômes produits. On peut penser qu'il se forme dans l'organisme un poison différent de celui des milieux artificiels ; c'est ce qui expliquerait les difficultés que l'on rencontre dans la production d'antitoxine typhique.

Action des conditions de milieu. — Le *Bacille typhique* est relativement peu résistant à la *chaleur* (Voy. p. 76). D'après Pfuhl (3), les cultures sont toujours tuées lorsqu'on les expose pendant vingt minutes à une température humide de 60° ; dix minutes ne suffiraient pas pour amener la stérilisation; une exposition d'une heure à 50° n'influe en rien sur la vitalité. Une température de 58° maintenue pendant une heure tue sûrement tous les Bacilles des cultures, tandis qu'elle semble tout à fait sans action sur les produits toxiques que peut contenir le milieu.

Remlinger (4) signale la diminution bien nette de virulence des cultures faites à 37°, plongées chaque jour à cinq ou six reprises pendant dix minutes dans un bain d'eau à 22-23 degrés.

Le *froid* est beaucoup moins actif. De nombreuses expériences démontrent que le *Bacille typhique* résiste longtemps à des gelées intenses et prolongées. Mitchel (5) l'a vu supporter une congélation de cent trois jours de durée. Prudden (6) a constaté qu'il restait vivant pendant de longs mois dans la glace maintenue entre — 1° et — 11° ; il a remar-

(1) Rodet, Sur les propriétés toxiques des B. d'Eberth et coli; toxicité comparée des produits solubles et des corps bacillaires. — *Id.*, Sur les propriétés favorisantes des produits solubles du B. d'Eberth et du *B. coli* (*Soc. de Biol.*, 9 juillet 1898).

(2) Chantemesse, Toxine typhoïde soluble et sérum antitoxique de la fièvre typhoïde (*Congrès d'hygiène de Madrid*, 1898).

(3) Pfuhl, Zur Sporenbildung der Typhusbacillen (*Centralbl. für Bakt.*, II, 1888, p. 769).

(4) Remlinger, Sur la sensibilité du Bacille d'Eberth aux variations de température (*Soc. de Biol.*, 3 juillet 1897).

(5) Mitchel, *The med. Record*, 1887.

(6) Prudden, On Bacteria in ice (*The med. Record*, XXXI, 26 mars 1887).

qué par contre que les alternatives de gel et de dégel lui étaient rapidement funestes.

La *lumière solaire* directe exerce sur lui son action destructive habituelle. Janowski (1) ne l'a vu résister que six à huit heures à l'insolation. La lumière diffuse agit aussi, mais d'une façon bien moins intense. Ce sont les rayons chimiques qui lui paraissent agir.

Les recherches de Vincent (2) donnent des renseignements beaucoup plus complets et confirment la grande sensibilité du *Bacille typhique* à la lumière. Elles montrent que dans l'eau, en présence d'air, si le milieu est transparent, exposé aux rayons du soleil, le microbe est tué au bout de quatre heures et demie à cinq heures, et seulement après huit ou neuf heures si le milieu est trouble. Dans un liquide peu nutritif, il se comporte comme dans l'eau ; dans un liquide très nutritif, au contraire, il ne paraît en rien influencé. Dans le vide, il se comporte à peu près comme dans l'air. Les rayons bleus, violets et ultra-violets ont une action bactéricide beaucoup plus intense que les rayons rouges et infra-rouges. A la surface de terre desséchée, le microbe est tué en cinq heures au minimum, huit heures au maximum ; dans la même terre humide, l'action du soleil est beaucoup plus lente et moins intense ; l'action est beaucoup plus rapide dans les sols poreux, sableux surtout, que dans les sols compacts. Sur des morceaux de toile de coton ou de lin, le microbe est tué par les rayons solaires après un temps de neuf à vingt-six heures d'exposition, variable avec l'épaisseur du tissu. Ce sont là des données qui peuvent être utilisées dans la pratique.

La *dessiccation* ne le fait périr qu'après un assez long temps, un ou deux mois d'après les recherches d'Uffelmann (3) faites sur la terre de jardin, le sable, les poussières de maisons ou de rues, diverses étoffes, de la sciure de bois.

Dans toutes ces expériences, cependant, il n'a été recherché que la vitalité du microbe, la limite de la puissance de végétation. Les modifications de la virulence ont été complètement délaissées ; comme c'est une propriété bien plus délicate que la végétabilité, on peut penser avec raison qu'elle est plus influencée que cette dernière.

Action des antiseptiques. — La résistance du *Bacille typhique* aux antiseptiques paraît être assez faible. Les solutions antiseptiques que l'on emploie ordinairement le font périr assez vite. Le sublimé à 1 p. 1000 le tue en moins d'une heure, l'acide phénique et tous les similaires en moins de temps si le taux de la solution dépasse 2 p. 100. L'acide chlorhydrique de 0,1 à 0,3 p. 100 le tue rapidement ; le fait a son importance à cause de l'effet du suc gastrique. Le brome à $0^{gr},06$ p. 1000 aurait une action très énergique (4). D'après Köhler (5), l'acide citrique, l'acide tartrique, l'acide nitrique, l'alun, empêcheraient tout

(1) Janowski, Zur Biologie der Typhusbacillen (*Centralbl. für Bakt.*, VIII, 1890).

(2) Vincent, Influence de la lumière solaire sur le Bacille de la fièvre typhoïde (*Revue d'hygiène*, 1898, p. 230).

(3) Uffelmann, Versuche über die Widerstandfähigkeit der Typhusbacillen gegen Trocknung (*Centralbl. für Bakt.*, XV, 1894, p. 133).

(4) Schumburg, Ein neues Verfahren zur Herstellung keimfreien Trinkwassers (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1897, nº 10).

(5) Köhler, Ueber das Verhalten des Typhusbacillus gegenüber verschiedenen chemischen agentien, in besondere Saüren, Alkaline und Anilinfarbstoffen (*Zeitschr. für Hygiene*, XIII, 1892, p. 54).

développement à 4 p. 100 ; l'acide tartrique à 3 p. 100 ; l'acide chlorhydrique à 2,5 p. 100 ; l'acide acétique à 2 p. 100 ; l'acide phénique à 1,5 p. 100 ; l'acide sulfurique à 0,5 p. 100. D'après Podgorny (1), l'iode le tue à 1 p. 600. L'aldéhyde formique à la dose de 5 centigrammes par litre empêche tout développement.

Inoculation expérimentale.

Pour apporter la preuve absolue des rapports directs de causalité qui existent entre une Bactérie et l'affection où on l'a observée, il faut, nous le savons, reproduire la maladie primitive par l'inoculation de cultures pures. Il se présente ici une réelle difficulté : aucune des espèces animales qui servent dans les laboratoires et sur lesquelles on a l'occasion d'expérimenter ne contracte la fièvre typhoïde ; aucune affection connue des vétérinaires n'offre les lésions intestinales caractéristiques.

La *fièvre typhoïde du cheval* n'a de commun que le nom avec la maladie humaine ; de nombreuses recherches n'ont pu y faire déceler le Bacille d'Eberth, mais des microbes tout autres (2).

Bien avant la connaissance du *Bacille typhique*, des expérimentateurs ont essayé d'inoculer à des animaux des produits virulents recueillis sur des typhiques. Inoculant du sang plus ou moins aseptiquement recueilli, du suc ou des morceaux d'organes, même des matières fécales, ils produisaient souvent de véritables septicémies, accompagnées, comme d'ordinaire, d'un gonflement plus ou moins prononcé des plaque de Peyer, mais dues incontestablement à des microbes autres que le Bacille d'Eberth.

Gaffky a, le premier, fait usage de cultures pures ; dans de nombreuses expériences, tentées sur des espèces animales très variées, il n'a obtenu que des résultats négatifs. Fraenkel et Simmonds, par contre, ont déterminé chez des lapins, des cobayes et des souris de maison, à la suite d'injections intraveineuses ou intrapéritonéales de cultures pures, une hypertrophie de la rate et des ganglions mésentériques, du gonflement des plaques de Peyer ; les cultures démontrèrent la présence de *Bacilles typhiques* dans ces organes. Seitz (3) détermina des symptômes analogues aux précédents, en injectant des déjections de typhiques et des cultures pures dans l'intestin de cobayes préparés d'après la méthode de Koch pour l'infection cholérique, auxquels on avait injecté dans l'estomac une faible dose de teinture d'opium et une solution de carbonate de soude.

Sirotinin (4), Beumer et Peiper (5), Kitasato et Wassermann (6), devant les résultats donnés par les inoculations, disent que l'état et les

(1) Podgorny, De l'action de l'iode sur les microbes pathogènes. Thèse de Saint-Pétersbourg, 1897.

(2) Lignières, Étiologie de la fièvre typhoïde du cheval (*Bull. de la Soc. centr. de méd. vét.*, 1897, p. 437).

(3) Seitz, Bacteriologische Studien zur Typhusaetiologie. Munich, 1886.

(4) Sirotinin, Die Uebertragung von Typhusbacillen auf Versuchsthiere (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 3e p., 1886).

(5) Beumer et Peiper, Bacteriologische Studien über die aetiologische Bedeutung der Typhusbacillus (*Ibid.*).

(6) Kitasato et Wassermann, Ueber Immunität und Giftfestigung (*Zeitschr. für Hygiene*, 1892, p. 137).

lésions produits ne sont pas la conséquence directe de la végétation du *Bacille typhique* dans l'organisme, mais sont l'effet d'une intoxication par une substance toxique contenue dans le produit injecté. Beumer et Peiper vont même jusqu'à dire qu'il serait possible d'arriver aux mêmes résultats en injectant de grandes quantités de microbes saprophytes.

D'après Kilcher (1), il faut faire la part de l'action de la substance toxique, qu'il croit être la typhotoxine de Brieger, et de celle de la Bactérie pathogène. La ptomaïne peut agir très vite et amener la mort avant que les lésions caractéristiques causées uniquement par les Bacilles aient pu apparaître. Il est évident que dans le premier cas on ne retrouve souvent point de *Bacilles typhiques*.

Pour Chantemesse et Widal (2), il y a une infection véritable, mais produisant des symptômes différents de ceux observés chez l'homme, rappelant plutôt ceux de certaines septicémies. Les souris blanches sont sensibles aux inoculations intrapéritonéales de 1 centimètre cube de bouillon de culture et succombent rapidement, en trente-six heures environ, avec une rate gonflée, les plaques de Peyer tuméfiées et une diarrhée liquide. Elles sont sensibles aux seuls produits solubles sécrétés par les Bactéries, que contiennent les cultures stérilisées ; mais il en faut de très fortes doses pour amener la mort, tandis qu'une quantité minime de culture la donne. C'est ce qui prouve bien que le *Bacille typhique* vit dans le corps des souris et sécrète son poison ; cela suffit pour dire qu'il y a infection véritable.

Enfin, une conclusion des plus importantes, annoncée par les derniers auteurs cités, est que les souris qui ont été inoculées d'avance avec des bouillons de culture préalablement stérilisés et qui ont résisté, deviennent réfractaires aux inoculations les plus virulentes. La substance toxique, sécrétée par la Bactérie, confère donc l'immunité.

Walter Cygnaeus (3) a vu succomber des souris, des lapins, des chiens, à la suite d'injections intraveineuses, intrapéritonéales, intra-intestinales de cultures de Bacille typhique. A l'autopsie, les animaux présentaient de la rougeur et du gonflement de la muqueuse intestinale, des plaques de Peyer et des follicules clos, de la rate et des ganglions mésentériques. Tous ces organes contenaient des Bacilles typhiques.

Gilbert et Girode (4) ont pu déterminer chez le cobaye, à la suite d'inoculations sous-cutanées de cultures pures, une affection très voisine de la fièvre typhoïde humaine par son évolution et les lésions produites. Les ulcérations des plaques de Peyer, en particulier, peuvent être rencontrées avec leur aspect typique. Le suc des organes et le liquide de l'intestin donnent des cultures pures du Bacille d'Eberth.

Les recherches très complètes de Sanarelli (5) et un travail de Chan-

(1) Kilcher, *Archives bohêmes de médecine*, décembre 1887, in *Sem. méd.*, 15 février 1888.

(2) Chantemesse et Widal, De l'immunité contre la fièvre typhoïde, conférée par des substances solubles (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888, nº 2).

(3) Walter Cygnaeus, Studien über den Typhusbacillus (*Zieglers Beitr. zur Anat. und allgem. Path.*, VII, 1890, 3e p.).

(4) Gilbert et Girode, Fièvre typhoïde expérimentale (*Soc. de Biol.*, 2 mai 1891).

(5) Sanarelli, Études sur la fièvre typhoïde expérimentale, 1er, 2e et 3e mémoires (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 721 ; VIII, 1894, p. 193 et 353).

temesse et Widal (1), paru en même temps que le premier mémoire du savant italien, ont démontré la réalité de l'infection typhique chez l'animal, mis en lumière les conditions les plus propices à la production de la *fièvre typhoïde expérimentale* et fait pressentir les importants résultats qu'il sera possible d'en tirer.

Les expériences des savants qui viennent d'être cités montrent que, pour réussir sûrement l'inoculation expérimentale, il faut prendre non pas un virus ordinaire, même fraîchement sorti de l'organisme humain, qui ne donne que des résultats incertains, souvent n'a aucun effet, ni à plus forte raison un virus de cultures de laboratoire, qui s'affaiblit très vite, mais un virus exalté par des passages successifs dans l'organisme animal.

Ils ont fait connaître divers procédés à l'aide desquels il leur a été possible d'augmenter considérablement l'activité d'un virus donné très peu actif ou même de redonner une activité très marquée à des cultures de laboratoire paraissant entièrement dépourvues de virulence.

Chantemesse et Widal indiquent deux manières de faire. En injectant sous la peau d'un cobaye une forte dose, 4 à 6 centimètres cubes, d'une culture fraîchement retirée de l'organisme humain, l'animal succombe souvent de vingt-quatre à quarante-huit heures.

La cavité péritonéale contient un abondant exsudat, très riche en Bacilles ; 2 à 3 centimètres cubes de cette sérosité sont mélangés à 10 centimètres cubes de bouillon et placés, pendant quelques heures, à l'étuve de 37°. On en inocule 4 à 5 centimètres cubes sous la peau d'un cobaye ; l'animal meurt déjà plus rapidement que le premier. On continue ainsi de cobaye à cobaye pendant quelques passages. On s'aperçoit vite qu'on peut diminuer la dose de virus, prendre successivement 3 centimètres cubes, 2 centimètres cubes, 1 centimètre cube. A un moment donné, trois quarts de centimètre cube arrivent à tuer le cobaye en vingt-quatre heures en inoculation sous-cutanée ; ce même virus tue à la dose de huit à dix gouttes en injection intrapéritonéale. Deux centimètres cubes de ce virus en injection intrapéritonéale, ou 4 centimètres cubes en injection intraveineuse, tuent le lapin en vingt-quatre à trente-six heures, avec généralisation du Bacille dans tous les organes ; cependant, la virulence du Bacille typhique, même ainsi exaltée, est inconstante pour le lapin.

On obtient les mêmes résultats, d'après eux, en faisant à un cobaye une injection sous-cutanée de 4 centimètres cubes d'une culture très peu virulente, voire même paraissant inactive, et en inoculant en même temps dans son péritoine de 8 à 10 centimètres cubes d'une culture en bouillon de *Streptocoque pyogène* stérilisée par une heure de chauffage à 60°. L'animal succombe généralement en moins de vingt-quatre heures avec généralisation du Bacille dans le sang, les organes et la séreuse péritonéale. Une seconde inoculation de 4 centimètres cubes d'une culture provenant du premier animal et de 5 centimètres cubes de bouillon de Streptocoque, faite dans les mêmes conditions à un autre cobaye, le tue aussi rapidement. En continuant les passages, on voit la virulence s'accroître. Le Bacille détermine bientôt l'infection sans l'intervention des produits solubles du Streptocoque ; puis tue

(1) Chantemesse et Widal, Étude expérimentale sur l'exaltation, l'immunisation et la thérapeutique de l'infection typhique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 755).

l'animal à des doses de moins en moins considérables. Parti d'une culture tout à fait inactive, on arrive à obtenir un virus qui tue le cobaye à la dose de 3 centimètres cubes en injection sous-cutanée, ou à la dose de 4 à 5 gouttes en injection intrapéritonéale.

Les procédés indiqués et mis en œuvre par Sanarelli conduisent à des résultats semblables. Partant de cette idée que les animaux fortement déprimés par certaines influences météorologiques, au premier rang desquelles se trouvent une température élevée et l'humidité, et présentant de graves désordres intestinaux, sont devenus manifestement plus sensibles aux infections, il a inoculé des cobayes ainsi déprimés avec des virus très atténués, sans effet sur des cobayes normaux; les premiers ont succombé. L'affaiblissement devant provenir d'une intoxication d'origine intestinale, à cause de l'énorme multiplication concomitante des microbes intestinaux représentés dans ces cas presque exclusivement par le *Bacillus coli communis*, il a pensé que les mêmes résultats pourraient être obtenus avec les produits solubles de ce dernier microbe; l'expérience lui a donné raison. Il part d'une culture de laboratoire, tout à fait inactive à doses massives; 0cc,5 de la culture de vingt-quatre heures sont inoculés dans le tissu sous-cutané dorsal à un cobaye, auquel on introduit en même temps, dans la cavité péritonéale, de 10 à 12 centimètres cubes d'une vieille culture en bouillon stérilisé de *Colibacille*. Le cobaye succombe toujours en douze ou quatorze heures. On trouve des Bacilles en abondance dans l'exsudat du péritoine, peu ou pas dans le sang, la rate ou les autres organes. Il est fait une culture dans le bouillon avec la sérosité péritonéale. De cette culture, on injecte 0cc,5 sous la peau d'un second cobaye auquel on injecte en même temps dans le péritoine 7 à 8 centimètres cubes de la culture stérilisée de *Colibacille*. La mort survient avec généralisation comme chez le premier animal. On continue ainsi les passages en diminuant progressivement la dose de toxine colibacillaire. On arrive vite à obtenir une infection typhique générale après l'inoculation seule de 0cc,5 de culture de *Bacille typhique*, sans l'aide de toxine colibacillaire. Le virus typhique est déjà si actif qu'il peut tuer seul le cobaye à petites doses; quelques gouttes dans le péritoine, de 3 à 4 centimètres cubes sous la peau, tuent régulièrement les cobayes et les lapins avec tous les caractères d'une infection véritable.

Il est possible de remplacer, dans ces expériences, les cultures stérilisées du *Bacillus coli communis* par celle du *Proteus vulgaris*, par des selles filtrées, additionnées d'eau et stérilisées. On obtient, aussi, les mêmes résultats par l'ingestion de petites quantités de macération de viande vieille d'un mois, stérilisée à 120°. Tous ces liquides doivent nettement donner la réaction de l'indol pour être aptes à produire l'exaltation cherchée.

D'après Sanarelli, on peut arriver à une même exaltation en partant d'un virus capable, à fortes doses, de tuer le cobaye, en le faisant passer à travers le péritoine d'une série d'animaux. Dans ce cas, au début, il faut alors souvent un peu remonter la virulence en injectant à la fois le virus et de la culture stérilisée de *Colibacille*.

Après une trentaine de passages de péritoine à péritoine, le virus paraît avoir acquis son maximum de virulence; une goutte de la séro-

sité péritonéale suffit pour tuer un cobaye en injection intrapéritonéale en douze à quatorze heures.

On peut cultiver de tels virus dans le bouillon ; les cultures de vingt-quatre heures sont très actives. Quelques gouttes dans le péritoine tuent les animaux sensibles. Il faut des doses plus fortes, en inoculation sous-cutanée de 3 à 4 centimètres cubes pour les lapins et les cobayes, un demi-centimètre cube pour les souris. Ces cultures ne se conservent pas longtemps actives hors de l'organisme ; la virulence diminue vite et graduellement.

Une telle inoculation intrapéritonéale détermine, chez le cobaye, une infection à évolution rapide, offrant presque toujours les mêmes caractères. La plupart des animaux succombent, quelques-uns résistent, présentant une sorte d'immunité naturelle. La durée moyenne de l'infection est de quinze à dix-huit heures.

L'inoculation sous-cutanée est un peu plus inconstante ; elle peut ne déterminer qu'un processus subaigu, qui n'amène la mort de l'animal qu'après quelques jours. Cependant, avec un virus très actif, tout se passe comme dans le premier cas, mais nous avons vu qu'il faut beaucoup plus de virus.

Pendant les premières heures, l'aspect de l'animal change peu. Le premier symptôme marqué est l'apparition de la fièvre ; la température monte à 38°, 39°, même 40°. L'accès fébrile se produit vers la deuxième ou la troisième heure, puis se termine vers la quatrième ou la cinquième ; pendant toute sa durée, l'animal est triste, ne mange plus. De la sixième à la douzième heure, la température continue à baisser à 37°, 36°, 35°, 34° et même 32°. Le cobaye se tient pelotonné dans un coin de sa cage, le poil hérissé ; l'abdomen météorisé est très sensible, l'animal crie à la moindre pression. La mort survient dans une sorte de collapsus. Il s'est produit, pendant cette courte période, un amaigrissement rapide ; l'animal a pu perdre un cinquième de son poids.

A l'autopsie, dès qu'on ouvre la cavité de l'abdomen, on constate une congestion intense des viscères et du péritoine ; dans la cavité péritonéale, on trouve une quantité variable, de 2 à 8 centimètres cubes, d'une sérosité louche, montrant de très nombreux Bacilles. L'intestin est toujours l'organe le plus atteint ; il est congestionné, rempli de liquide et montre les plaques de Peyer et les ganglions mésentériques tuméfiés. Le contenu est tout à fait diarrhéique ; le liquide renferme une quantité énorme de cellules épithéliales de la muqueuse et des globules sanguins, démontrant l'existence d'une entérite desquamative aiguë. Le *Bacille typhique* se trouve dans les organes, l'exsudat péritonéal, le sang et souvent les matières fécales ; il semble, dans les cas aigus au moins, avoir un lieu d'élection sur les surfaces séreuses, séreuses péritonéale et pleurale principalement.

En inoculant des doses moindres ou du virus faible, on peut obtenir une affection à marche chronique, souvent guérissable, ou simplement, dans les cas d'inoculation sous-cutanée, des symptômes locaux.

Dans les cas chroniques, le Bacille peut disparaître complètement de cinq à vingt-cinq jours après l'inoculation.

La lésion locale que l'on obtient est une lésion avec suppuration, souvent un véritable abcès. G. Roux (1), en inoculant 2 centimètres

(1) G. Roux, *Soc. des sc. méd. de Lyon*, avril 1888.

cubes de bouillon de culture sous la peau d'un lapin, a obtenu un abcès contenant du pus séreux, donnant des cultures pures de *Bacille typhique*; Gasser (1), en opérant de même, a eu plusieurs fois des résultats semblables ; Sanarelli, Chantemesse et Widal ont observé la production de mêmes lésions suppuratives locales. Il semble donc bien acquis que le *Bacille typhique* puisse être expérimentalement pyogène.

Si les foyers de suppuration sont peu étendus, ils diminuent et guérissent peu à peu. Sanarelli a remarqué qu'en injectant dans le péritoine des toxines de *Colibacille* ou de *Proteus vulgaris* à des cobayes ne présentant que des lésions locales minimes ou même paraissant complètement rétablis, on déterminait toujours une infection générale de l'organisme par les microbes des foyers anciens et on reproduisait le tableau de l'infection expérimentale aiguë. Chez les cobayes qui ont présenté une infection à marche chronique et qui sont en voie de guérison, il est possible de cette façon de provoquer une véritable *rechute*, analogue à celles que l'on observe dans la maladie humaine. Les effets observés varient naturellement avec le mode d'obtention du liquide complexe auquel on donne le nom de *toxine typhique*.

Remlinger (2) a pu contaminer des lapins et des rats blancs par la voie intestinale en leur donnant à manger des légumes largement souillés de cultures virulentes, après les avoir mis à la diète pendant deux ou trois jours. Cette alimentation était continuée jusqu'aux premiers symptômes de l'infection et dans aucun cas plus de dix jours. Une partie des animaux en expérience n'ont rien présenté ; leur sérum n'a montré aucun pouvoir agglutinant ; leurs matières fécales renfermaient cependant de nombreux *Bacilles typhiques* tant que dura l'usage de nourriture infectée. D'autres ont présenté des symptômes et des lésions rappelant beaucoup plus la fièvre typhoïde humaine que ceux observés à la suite des inoculations sous-cutanées ou intrapéritonéales. Après une période d'incubation de cinq à dix jours, l'animal devient nettement malade, sa température s'élève au-dessus de 40°, il fait une véritable fièvre typhoïde à laquelle il peut succomber. A l'autopsie, on trouve les lésions caractéristiques ; les plaques de Peyer sont tuméfiées et ulcérées ; la muqueuse intestinale est souvent ulcérée ; les ganglions mésentériques sont tuméfiés ; la rate est augmentée de volume, molle et diffluente. L'ensemencement de la pulpe de la rate donne des cultures de *Bacille typhique*. C'est là la véritable *fièvre typhoïde expérimentale*.

Chantemesse et Ramond (3) ont obtenu des résultats semblables avec le singe macaque, le lapin, le cobaye et le rat blanc.

Le singe est soumis à l'antisepsie intestinale par le régime lacté exclusif continué pendant quinze jours. On lui fait ingérer le raclage d'un tube de culture sur gélose mélangé à de la confiture. Deux ou trois jours après, l'animal est pris de fièvre, son appétit diminue, de la diarrhée peut survenir ; la fièvre s'accentue, l'état général devient mauvais, l'animal succombe du huitième au douzième jour. A l'autopsie, les lésions sont tout à fait caractéristiques.

(1) Gasser, Thèse de Paris, 1890.

(2) Remlinger, Fièvre typhoïde expérimentale par contamination alimentaire (*Soc. de Biol.*, 10 juillet 1897, et *Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 829).

(3) Chantemesse et Ramond, Fièvre typhoïde expérimentale (*Soc. de Biol.*, 17 juillet 1897). — Ramond, Étude sur la fièvre typhoïde expérimentale. Thèse de Paris, 1898.

Chez le lapin, pour réussir, il vaut mieux diminuer la résistance intestinale, en injectant dans la cavité péritonéale cinquante gouttes de laudanum mélangées à 10 centimètres cubes de bouillon stérile. Après un quart d'heure, on fait ingérer, à l'aide d'une sonde, 5 centimètres cubes d'une culture âgée de vingt-quatre à quarante-huit heures; il est bon de répéter l'opération pendant quatre ou cinq jours. On obtiendrait de meilleurs résultats en préparant au préalable les animaux par des injections sous-cutanées de sérum humain ou d'urine humaine pratiquées tous les jours pendant trois semaines, déterminant, pour les expérimentateurs, une sorte d'*humanisation* de l'animal. La marche de l'affection produite, les symptômes observés, rappellent de très près la maladie humaine ; on peut observer les mêmes différences d'évolution, les mêmes complications, la broncho-pneumonie surtout, des rechutes très nettes, la guérison ou la mort. Le séro-diagnostic est positif.

A l'autopsie, on trouve les lésions caractéristiques de la dothiénentérie. On isole facilement le Bacille des organes ; on peut même observer des associations avec le *Colibacille*, le *Proteus*, des *Staphylocoques*, comme dans la maladie humaine. La marche, les lésions rappellent surtout la fièvre typhoïde de l'enfant.

Lépine et Lyonnet (1) ont réussi à infecter le chien en injectant quelques centimètres cubes de culture virulente dans une anse intestinale, isolée par le procédé de Thiry ou plus simplement dans l'épaisseur des parois de l'intestin. Les lésions observées étaient aussi celles de la fièvre typhoïde humaine.

On voit à ce sujet qu'il n'y a plus de doutes à conserver sur la possibilité de l'inoculation à l'animal de la fièvre typhoïde de l'homme.

Inoculation de toxine. — Sanarelli obtient une toxine active en opérant de la façon suivante : Il ensemence du bouillon glycériné à 2 p. 100 avec quelques gouttes de l'exsudat péritonéal d'un cobaye qui a succombé à l'inoculation d'un virus très actif. Les ballons de culture sont placés à 37° pendant un mois, stérilisés et laissés en repos pendant huit mois à la température de la chambre; puis ils sont hermétiquement clos et mis à macérer quelques jours à 60°. Ces manipulations ont pour but d'extraire la substance toxique contenue dans le corps des microbes. Avant l'usage, le liquide clair est soigneusement décanté, pour le séparer de la couche formée des Bacilles morts.

Le *cobaye* est le meilleur réactif du poison typhique; le lapin et la souris blanche sont moins sensibles et donnent souvent des résultats inconstants.

Pour le cobaye, la dose mortelle minima de toxine s'est montrée de 1 centimètre cube et demi pour 100 grammes du poids du corps en inoculation sous-cutanée. L'inoculation intrapéritonéale est moins sûre ; une dose de toxine capable de tuer infailliblement l'animal par voie sous-cutanée peut ne rien déterminer si on l'injecte dans le péritoine. A la dose indiquée, $1^{cc},5$ p. 100, la mort de l'animal survient en dix à seize heures. L'injection de toxine détermine *immédiatement* de l'hy-

(1) Lépine et Lyonnet, Étude sur quelques effets de la toxine typhique chez le chien (*Revue de méd.*, 1897, p. 905). — *Id.*, Sur l'infection typhique expérimentale chez le chien (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 13 février 1899).

pothermie ; la température baisse progressivement jusqu'au moment de la mort, sans interruption ou en offrant de petits arrêts. Une heure environ après l'inoculation, il se produit une forte météorisation abdominale, avec sensibilité douloureuse extrême ; l'animal se tient immobile, courbe le dos, étale ses pattes, cherche à éviter tout contact. Cet état dure de quatre à cinq heures, puis est suivi d'une période de calme relatif; l'animal est tremblant ; par le rectum sort une mucosité jaunâtre et sanguinolente. Il devient inerte, la météorisation disparaît, les parois du ventre deviennent molles et moins sensibles, la paralysie envahit les muscles respiratoires, la mort survient dans l'asphyxie.

A l'autopsie, on trouve dans le péritoine une quantité plus ou moins grande d'un exsudat riche en leucocytes, trouble, rempli de flocons fibrino-purulents. La rate est congestionnée, friable. Tout l'intestin est fortement congestionné et hémorragique ; son contenu est diarrhéique et sanguinolent ; les plaques lymphatiques sont infiltrées et congestionnées. Les reins ne sont pas modifiés ; les capsules surrénales sont congestionnées. L'utérus est fortement congestionné.

Il est évident que le poison typhique, outre son action sur les centres nerveux, montre une influence considérable, on pourrait dire élective, sur toutes les muqueuses en général et sur celle de l'intestin en particulier.

Les symptômes observés dans l'inoculation de cultures actives et l'inoculation de toxine sont en somme très semblables ; les altérations produites sont identiques.

La différence la plus marquée, dans les deux processus, est l'absence dans le second de l'hyperthermie initiale, constante dans le premier. Sanarelli obtient cette hyperthermie en inoculant de petites doses, non mortelles, de toxine ; il en conclut que, dans l'infection typhique, l'hyperthermie représente le pouvoir de résistance de l'organisme dans sa lutte contre la maladie. Cette lutte ne peut s'établir que lorsque le poison ne se produit qu'en proportions insuffisantes pour vaincre immédiatement la résistance de l'organisme qui est sidéré, pour ainsi dire, par une dose rapidement mortelle de poison comme celle introduite par une grande quantité de toxine active.

En examinant le contenu liquide de l'intestin des animaux qui ont succombé à l'infection ou à l'intoxication typhiques, on y constate la présence d'une quantité considérable de microbes, infiniment plus que ce que l'on peut rencontrer dans un intestin sain. Pendant le processus morbide, les microbes intestinaux doivent donc beaucoup augmenter de nombre. L'expérience démontre qu'on ne rencontre alors presque exclusivement que le *Colibacille* qui a pullulé d'une façon extraordinaire et, fait important, qui a acquis une virulence qu'il n'a pas d'habitude dans l'intestin. C'est là la raison des infections secondaires dues au *Colibacille*, si fréquemment observées dans la fièvre typhoïde de l'homme ; l'épithélium intestinal se desquamant sous l'action de la toxine typhique, le *Colibacille* peut traverser l'intestin, envahir le péritoine, la rate, quelquefois même le sang.

Chantemesse (1) recommande la méthode suivante qui fournirait une toxine beaucoup plus virulente : il cultive un Bacille à virulence exaltée par de nombreux passages sur l'animal, sur une macération à froid de rate et de moelle des os additionnée d'un peu de sang humain défibriné.

(1) Chantemesse, Sur la toxine typhoïde soluble (*Soc. de Biol.*, 23 et 30 janv. 1897).

Au bout de trente-six heures, ce Bacille donne un voile sur le milieu et vers le quatrième ou cinquième jour la production de toxine est à son maximum. Elle diminue ensuite et disparaît vers le quinzième jour.

Il obtient d'aussi bons résultats avec un bouillon préparé en faisant digérer une rate, dans de l'eau acidulée, par la pepsine d'un estomac de porc, neutralisant et stérilisant. Le liquide est disposé dans des vases à large surface, en contact avec beaucoup d'air, puis ensemencé avec un Bacille très virulent, sortant du corps d'un animal. Après cinq ou six jours, la sécrétion de toxine est à son maximum, on peut filtrer ; elle diminue ensuite (1).

La toxine ne peut se conserver qu'en tube fermé à la lampe et à l'abri de la lumière. Par ingestion, elle ne détermine rien chez l'animal ; injectée sous la peau ou dans le sang, elle est très active.

Le caractère de fugacité du produit actif permet de le distinguer de celui de Sanarelli obtenu par une macération prolongée des corps bacillaires, par conséquent mélange beaucoup plus complexe ; d'autres propriétés signalées (p. 696) sont également différentes.

L'injection dans le péritoine du cobaye d'une dose de 1 centimètre cube de cette toxine par 80 grammes de poids fait périr l'animal entre douze et vingt-quatre heures ; les souris sont très sensibles ; le cheval également ; le lapin et le mouton sont un peu plus résistants que le cobaye.

Lépine et Lyonnet (2) ont montré que le chien était très sensible à l'action de la toxine typhique en injection intraveineuse. Leur toxine provenait de cultures en bouillon ordinaire, vieilles de quatre à huit jours, stérilisées par un chauffage de une heure à deux à 58 degrés.

Immunité et sérothérapie.

Beumer et Peiper ont annoncé les premiers avoir pu conférer l'immunité contre le virus typhique à des souris auxquelles ils avaient injecté des doses très minimes d'abord, puis graduellement croissantes, de cultures de *Bacille typhique*. Chantemesse et Widal sont arrivés beaucoup plus facilement et plus sûrement aux mêmes résultats en injectant dans le péritoine de souris blanches de petites doses, 1/4 à 1/2 centimètre cube, de cultures virulentes âgées de trois jours, stérilisées à 120° à l'autoclave pendant dix minutes. Brieger, Kitasato et Wassermann (3) ont également réussi sur la souris, pas sur le cobaye, à l'aide d'inoculations de cultures faites dans du bouillon de thymus et chauffées ensuite à 60°. C'est aussi aux produits solubles qu'ont eu recours Sanarelli (4), Chantemesse et Widal (5), qui ont facilement obtenu l'immunisation de cobayes et de lapins ; Beumer et Peiper (6) ont aussi réussi à immuniser

(1) Chantemesse, Toxine typhoïde soluble et sérum antitoxique de la fièvre typhoïde (*Congrès d'hyg. de Madrid*, 1898).

(2) Lépine et Lyonnet, Étude sur quelques effets de la toxine typhique chez le chien (*Revue de méd.*, 1897, p. 905).

(3) Brieger, Kitasato et Wassermann, Ueber Immunität und Giftfestigung (*Zeitschr. für Hygiene*, 1892, p. 137).

(4) Sanarelli, Fièvre typhoïde expérimentale (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1892, p. 721).

(5) Chantemesse et Widal, Études expérimentales sur l'exaltation, l'immunisation et la thérapeutique de l'infection typhique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1892, p. 755).

(6) Beumer et Peiper, Ueber die immunisierende und heilende Wirkung antitoxischen Hammelserum gegen der Typhusgift (*Zeitschr. für klin. Med.*, XXVIII, 1895).

des moutons en leur inoculant sous la peau, à diverses reprises, des cultures virulentes préalablement chauffées pendant une heure à 60 degrés.

Funck (1) a employé des cultures d'un mois, en bouillon, d'un Bacille très virulent, stérilisées par addition de 1/2 p. 100 d'acide phénique, pour obtenir l'immunisation de la chèvre et du cheval. Chantemesse (2) a réussi à immuniser le cobaye, le lapin et plus difficilement le cheval par l'emploi de doses progressivement croissantes de sa toxine très active (p. 699).

Il est beaucoup plus chanceux de recourir aux cultures vivantes, comme l'ont fait principalement Pfeiffer et Kolle (3). Le virus vivant même très atténué, inoculé sous la peau, provoque en effet toujours des indurations longues à disparaître, très souvent des suppurations de longue durée, aboutissant à des pertes de substances souvent étendues. De plus, dans ce cas, d'après ce que nous avons vu, une simple résorption accidentelle de toxines intestinales peut déterminer une infection générale.

Sanarelli conseille de se servir de bouillons de cultures ensemencés avec du virus très actif, exalté comme il a été dit, et laissés huit à dix jours à 37°. Ces cultures sont ensuite stérilisées à 120°. En injectant sous la peau de cobayes, pesant environ 400 grammes, de 16 à 18 centimètres cubes de ces cultures stérilisées, à doses réparties pendant une période de cinq jours, on obtient sans exception l'immunité à partir du quatrième jour après la fin du traitement préventif ; le cobaye peut, du reste, supporter des doses plus fortes, 35 à 40 centimètres cubes. Les lapins sont plus sensibles ; il faut agir avec beaucoup de prudence, avec des doses initiales plus faibles et moins rapprochées ; encore, ils maigrissent beaucoup et succombent facilement.

Chantemesse a réussi sur le cheval avec la toxine préparée suivant sa méthode, mais l'accoutumance est très longue et très pénible, à cause surtout des arrêts nécessités par les réactions occasionnées par le poison typhique sur cet animal qui y est si sensible. La toxine est introduite sous la peau ou dans les veines ; il lui a fallu plusieurs années de traitement pour obtenir un degré d'immunisation assez solide. Le sérum qu'il obtient est nettement antitoxique et jouit de propriétés préventives manifestes contre l'infection typhique expérimentale chez le cobaye et le lapin.

On obtient très vite et très aisément l'immunité, mais très passagère, par l'injection sous-cutanée d'une petite quantité de sérum d'animaux préalablement immunisés comme il vient d'être dit, à l'aide des cultures stérilisées.

C'est cette observation qui a conduit Brieger, Kitasato et Wassermann aux premiers essais de *sérothérapie* de la fièvre typhoïde.

Les travaux qui ont été cités précédemment démontrent, en effet, que le sérum des animaux immunisés jouit de propriétés préventives et curatives à l'égard du virus typhique. Une dose de culture mortelle

(1) Funck, La sérothérapie de la fièvre typhoïde. Bruxelles, 1896.

(2) Chantemesse, Toxine typhoïde soluble et sérum antitoxique de la fièvre typhoïde (*Congrès d'hyg. de Madrid*, 1898).

(3) Pfeiffer et Kolle, Ueber die specifische Immunitätsreaction der Typhusbacillus (*Zeitschr. für Hygiene*, XXI, 1896, p. 203). — *Id.*, Zur Differenzialdiagnose der Typhusbacillus vermittelst Serums der gegen Typhus immunisirten Thiere (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1896, n° 12).

pour un cobaye devient inoffensive lorsqu'on la mélange à un demi-centimètre cube de sérum de cobaye vacciné; une dose de 6 centimètres cubes, injectée cinq heures après une injection virulente, par conséquent en pleine période d'état, sauve l'animal.

Beumer et Peiper ont obtenu, avec le mouton, un sérum beaucoup plus actif. Une demi-goutte, une goutte au plus, suffit à préserver la souris blanche contre l'inoculation d'une dose de virus sûrement mortelle. Chez le cobaye, 0,07 à 0,08 centimètre cube de ce sérum pour 100 grammes de poids annihilent l'effet d'une dose de virus quatre fois plus grande que la dose mortelle.

Klemperer et Levy (1) ont eu recours au chien pour préparer un sérum antityphique ; puis à la chèvre, où ils ont constaté l'efficacité du lait, beaucoup plus faible que le sérum cependant.

Les applications à la thérapeutique de la fièvre typhoïde de l'homme n'ont encore fourni aucun résultat bien probant. Cesaris-Demel et Orlandi (2) disent avoir obtenu une légère amélioration en se servant du sérum d'animaux vaccinés contre le *Bacille typhique* ou contre le *Colibacille*. Börger (3), avec le sérum de Beumer et Peiper, croit aussi avoir vu le médicament se montrer efficace dans une série de 12 cas; la défervescence serait survenue plus tôt et la maladie lui aurait paru plus bénigne. Chantemesse a pu obtenir un sérum d'une puissance préventive telle qu'un cinquantième de centimètre cube, inoculé vingt-quatre heures d'avance à un cobaye, et un trentième de centimètre cube à un lapin, les protègent efficacement contre la dose de virus typhique mortelle pour les animaux témoins; chez l'homme typhoïdique, ce sérum agit bien à la façon d'un antitoxique diminuant et supprimant les phénomènes nerveux, abaissant la température, hâtant la guérison.

Il n'est pas possible encore de tirer des conclusions bien fermes des résultats intéressants déjà annoncés; il faut attendre de nouvelles études.

Un fait des plus curieux assurément et qui démontre combien sont intimes les affinités qui existent entre le *Bacille typhique* et le *Colibacille*, est la vaccination réciproque que Sanarelli et Cesaris-Demel et Orlandi ont réussi à démontrer chez le cobaye pour ces deux microbes; les cobayes vaccinés contre le *Colibacille* résistent aux inoculations intrapéritonéales de *Bacille typhique*; ceux vaccinés contre le *Bacille typhique* résistent à l'inoculation intrapéritonéale de *Colibacille*. Cesaris-Demel et Orlandi affirment même que le sérum colibacillaire est plus actif contre l'infection typhique expérimentale que le sérum typhique lui-même ; Loeffler et Abel (4) reconnaissent au sérum d'animaux non traités une certaine propriété immunisante à l'égard des deux virus et trouvent que les sérums typhique et colibacillaire ne protègent que très peu plus que le sérum normal contre l'infection par le microbe congénère.

(1) Klemperer et Levy, Ueber Typhus-Heilserum (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1895, p. 601).

(2) Cesaris-Demel et Orlandi, Sull' equivalenza biologica dei prodotti del B. coli e del B. typhi (*Archivio per le scienze mediche*, XVII, 1893, p. 279).

(3) Borger, Zur Behandlung des Typhus abdominalis mit antitoxischen Heilserum (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 637).

(4) Loeffler et Abel, Ueber die spezifischen Eigenschaften der Schutzkörper im Blute Typhus und Coli immuner Thiere (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 51).

Pfeiffer et Kolle (1) disent qu'il est possible d'obtenir, chez l'homme, de bons résultats de la vaccination à l'aide de cultures stérilisées.

Ils se servent de cultures sur gélose bien virulentes, provenant de la rate d'un typhique, et les émulsionnent dans du bouillon stérilisé, de telle sorte qu'un centimètre cube contienne 2 milligrammes de culture, dose susceptible de tuer un lapin de 300 grammes en inoculation intrapéritonéale. L'émulsion est stérilisée par un chauffage de plusieurs heures à 56° ; mise en cultures, elle ne doit donner aucun développement.

En inoculant à l'homme, sous la peau, 1 centimètre cube du produit, on observe une réaction très évidente. Les premiers symptômes apparaissent après deux à trois heures ; c'est du frissonnement, des vertiges, un malaise vague, des sensations douloureuses dans la région injectée. Le soir, la température monte à 38°,5 ; il y a un peu d'agitation. Le lendemain matin, on trouve encore un peu d'hyperthermie, puis tout disparaît. A l'aide de ventouses scarifiées, on prélève du sang et on en essaie, à diverses reprises, l'action immunisante chez le lapin. Au bout de six jours, l'action immunisante du sérum pour le lapin est au moins égale à celle que possède le sérum de convalescents de fièvre typhoïde. Peut-être pourra-t-on arriver de cette façon à conférer l'immunité à l'homme ; toutefois, jusqu'ici, on n'a eu aucune confirmation de ces résultats.

Habitat et rôle étiologique.

Le *Bacille typhique* se trouve dans l'organisme des malades atteints de fièvre typhoïde ; il pourrait, d'après certaines recherches, se rencontrer dans l'organisme sain ; enfin, il existe disséminé dans le milieu extérieur.

Bacille typhique dans l'organisme malade.

Le processus de l'infection naturelle par le Bacille typhique est assez spécial. Le microbe n'envahit pas tout le système sanguin, comme dans les affections septicémiques ; il ne reste pas non plus cantonné localement, comme les virus de la diphtérie et du tétanos ; il se rassemble, au contraire, sur un certain nombre de points de l'organisme qui présentent une sorte de prédilection à son égard. Et, ici, on retrouve dans la maladie déterminée expérimentalement les mêmes conditions que dans l'infection naturelle. Le microbe n'est pas un parasite du sang où il ne se trouve que temporairement, mais bien plutôt, et surtout au début, un parasite du système lymphatique ; c'est en effet par énormes quantités qu'on en rencontre dans bien des dépendances de ce système, surtout les ganglions lymphatiques, les espaces lymphatiques. On n'en peut conclure que la fièvre typhoïde est surtout une infection du système lymphatique.

De là vient que certains organes sont particulièrement atteints et que c'est chez eux qu'il y a le plus de chance de rencontrer le microbe.

(1) Pfeiffer et Kolle, Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Schutzimpfung des Menschen gegen Typhus abdominalis (*Deutsche med. Wochenschr.*, n° 46, novembre 1896, p. 468).

Sanarelli a établi qu'il avait une prédilection réelle pour les séreuses, surtout la séreuse péritonéale, où on le retrouve toujours quel qu'ait été son lieu de pénétration ; nous avons vu qu'il y déterminait une inflammation assez intense, se traduisant par la production d'un exsudat plus ou moins abondant qui fourmille de Bacilles.

Les ganglions mésentériques, les follicules clos de l'intestin sont aussi envahis au début.

Vient ensuite la rate, envahie très tôt aussi, plus ou moins complètement, et alors plus ou moins modifiée d'aspect, tantôt peu hypertrophiée, n'ayant presque pas changé d'aspect et ne contenant que relativement peu de microbes, tantôt tuméfiée, molle, noirâtre, pouvant alors renfermer des quantités de Bacilles.

Après la rate, se classent, par ordre de fréquence, les capsules surrénales, le foie, les poumons, la moelle des os. Chantemesse et Widal le signalent aussi dans le muscle cardiaque, dans les méninges (4 fois sur 8), dans le testicule (1 fois sur 1).

Il paraît ne se trouver que rarement, et alors temporairement, dans le sang. Les ensemencements même d'une goutte de sang sont presque toujours négatifs, et ceci aussi bien sur le vivant qu'à l'autopsie ; nous savons, toutefois, qu'il faut bien souvent ensemencer de grandes quantités de sang pour obtenir des résultats positifs. Les résultats de Castellani, de Grandmaison et Cartier (1) peuvent faire penser qu'on l'y rencontre surtout dans les cas graves. Neuhauss (2) dit l'avoir isolé neuf fois sur quinze du sang des taches rosées qu'il regarde comme produites par des embolies bacillaires ; Neufeld (3) a obtenu treize fois des résultats positifs sur quatorze recherches et donne comme condition de succès la mise en culture immédiate et l'emploi de milieux liquides, pour empêcher le plus possible l'action bactéricide du sang de s'exercer. Wyssokowitsh (4) a du reste donné la preuve de ce fait de rareté du microbe dans le sang dans une série d'expériences. Après avoir injecté d'une culture pure de *Bacille typhique* dans les veines de lapins qu'il sacrifie au bout de dix-huit heures, il n'a jamais retrouvé de Bacilles dans le sang du cœur, mais toujours, et en très grande quantité, dans la rate et dans la moelle des os qui les emmagasineraient, selon lui. De plus, Chantemesse et Widal ont reconnu la présence du *Bacille typhique* dans le sang du placenta dans un cas d'avortement au quatrième mois de la grossesse ; Neuhauss, dans le foie et la rate d'un fœtus dans les mêmes circonstances ; Hildebrandt (5) et Ernst (6) ont obtenu également des résultats semblables ; Chantemesse et Widal ne sont jamais parvenus, malgré des tentatives répétées, à l'isoler du sang d'un cadavre ; Fraenkel et Simmonds y sont arrivés une fois.

Grâce à l'expérimentation sur le lapin, il est possible, d'après Ra-

(1) De Grandmaison et Cartier, *Soc. de Biol.*, janvier et novembre 1899.

(2) Neuhauss, Nachweiss der Typhusbacillus am Lebenden (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1886, nos 6 et 24).

(3) Neufeld, Ueber die Züchtung der Typhusbacillen aus Roseolaflecken nebst Bemerkungen über die Technik bakteriologischer Blutuntersuchungen (*Zeitschr. für Hygiene*, XXX, 1899, p. 498).

(4) Wyssokowitsch, Ueber die Schicksale der im Blut injicirte Mikroorganismen (*Zeitschr. für Hygiene*, I, p. 3).

(5) Hildebrandt, *Fortschr. der Med.*, VII, no 23.

(6) Ernst, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1889, p. 994.

mond (1), de suivre pas à pas les différentes étapes de l'infection typhique réalisée par la voie intestinale, devant représenter, à ce qu'il semble, ce qui se passe dans la fièvre typhoïde de l'homme.

Le Bacille ingéré se localise d'abord dans la paroi de l'intestin : on le rencontre dans les follicules clos, les plaques de Peyer. De là, il envahit la sous-muqueuse et se rend dans les lymphatiques de la couche connective sous-séreuse; il gagne les ganglions mésentériques, les franchit, arrive dans le canal thoracique, d'où il est déversé dans le courant sanguin. Cette phase de début, de localisation dans le système lymphatique intestinal, correspondrait à la phase d'incubation de l'affection.

Le Bacille arrive alors dans le cœur droit, traverse le poumon, revient dans le cœur gauche et est envoyé dans la circulation générale. Mais différents parenchymes, la rate principalement, le foie, le rein, l'arrêtent en filtrant pour ainsi dire le sang. Le microbe se développe dans les tissus, y produit son poison qui diffuse dans l'organisme en déterminant les symptômes spéciaux. C'est la période d'état.

Par suite des différences qui existent dans le degré de virulence du microbe, dans les conditions spéciales des organes, il se produit les modalités diverses observées dans l'affection.

On trouve souvent le *Bacille typhique* dans la bile de la vésicule.

Bouchard a signalé le premier sa présence dans les urines de typhiques, mais seulement dans les cas où l'urine renfermait de l'albumine rétractile, indice d'une lésion rénale qui avait permis aux Bactéries de passer dans l'urine ; Neumann (2) a retrouvé plusieurs fois le microbe dans ces conditions ; Petruschky (3) a constaté trois fois sur cinquante malades examinés l'élimination en masse de Bacilles typhiques par l'urine ; dans un cas, il n'y avait pas trace d'albumine ; chez un des malades, cette élimination bacillaire dura plus de deux mois, se poursuivant pendant la convalescence.

Sudakoff (4) a pu isoler deux fois le *Bacille typhique* de la sueur de malades. Wigura (5) le signale sur la peau de malades et d'infirmiers.

Chantemesse et Widal n'ont rien obtenu du lait de deux nourrices atteintes de fièvre typhoïde, rien également de sudamina étendus, ni des crachats de malades atteints de bronchite intense.

La question de la présence du *Bacille typhique* dans le contenu intestinal et dans les selles des typhiques est très discutée aujourd'hui. Gaffky n'était pas parvenu à l'y déceler et attribuait son échec à la présence d'un trop grand nombre de saprophytes qui ne permettaient pas de l'isoler facilement. Beaucoup de ces espèces, liquéfiant très vite la gélatine, détruisent trop tôt les cultures sur plaques. Chantemesse et Widal, en usant de gélatine additionnée d'acide phénique, sont parvenus à l'isoler. La proportion d'antiseptique employée suffit pour arrêter ou

(1) Ramond, Étude sur la fièvre typhoïde expérimentale. Thèse de Paris, 1898.

(2) Neumann, Ueber Typhusbacillen im Urin (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1890, n° 6).

(3) Petruschky, Ueber Massenauscheidung von Typhusbacillen durch den Urin von Typhus-Rekonvalescenten und die epidemiologische Bedeutung düser Thatsache (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 577).

(4) Sudakoff, Ueber Bakterienausscheidung mit den Schweisse bei einigen Infektionskrankheiten (*Wratch*, 1898, n° 25).

(5) Wigura, Ueber Quantität und Qualität der Mikrobien auf der Menschlichen Haut (*Wratch*, 1895, n° 14).

ralentir la croissance des espèces liquéfiantes, tout en ne nuisant pas à celle de quelques autres, particulièrement le *Bacille typhique* et aussi le *Colibacille*. Ils ont reconnu qu'on ne pourrait guère rencontrer le microbe cherché avant la période des ulcérations intestinales, ce qui confirme l'opinion émise par Wyssokowitsch que le parasite ne devait apparaître dans les matières fécales que lorsque l'ulcération des plaques de Peyer lui permet le passage dans la cavité intestinale. D'après Chantemesse et Widal, c'est à partir du dixième jour, et surtout du quatorzième ou dix-septième, quand les escarres sont tombées, qu'on en trouve un grand nombre dans les selles ; en général, à partir du vingt-deuxième jour on n'en rencontre plus, mais ils reparaissent aux rechutes.

Karlinski (1), dans des recherches portant sur vingt et un malades, a observé qu'on ne rencontrait pas le *Bacille typhique* dans les selles avant le neuvième jour de la maladie et que c'était d'ordinaire du douzième au quatorzième jour qu'on en rencontrait le plus.

Sanarelli, dans de nombreux examens faits sur le contenu intestinal des animaux inoculés, dit n'avoir jamais rencontré, en cultures sur plaques, que des colonies de *Colibacille* à l'exclusion du *Bacille typhique*; il en conclut que les *Bacilles typhiques* ne pénètrent pas en quantité appréciable dans l'intestin, même dans le cas d'inoculation intra-péritonéale, mais que le *Colibacille* tend à se multiplier et à rester seul dans l'intestin.

Wathelet (2), sur six cents colonies recueillies dans des selles typhiques, et ayant les caractères extérieurs communs au *Bacille typhique* et au *Colibacille*, n'a rencontré le premier que dix fois ; il n'a pas pu le constater chez plusieurs malades.

D'après ces données, le *Bacille typhique* ne paraîtrait au moins pas fréquent dans les selles de malades. Les résultats s'accordent mal avec la conception la plus habituelle de la fièvre typhoïde, qui fait de cette maladie une infection à siège intestinal ; au contraire, ils pourraient corroborer l'opinion émise par Sanarelli, qui la regarde surtout comme une infection du système lymphatique et considère le passage des microbes à travers l'intestin et leur mélange avec son contenu comme un phénomène accidentel et secondaire.

Il est cependant opportun d'insister ici sur la très grande difficulté, l'impossibilité même pour quelques-uns (3), de parvenir à isoler le *Bacille typhique* lorsqu'il se trouve mélangé au *Colibacille*. L'antagonisme réel du *Colibacille* et du *Bacille typhique* peut encore être invoqué ici. Cet antagonisme se démontre très clairement en ensemençant du *Colibacille* dans une culture de *Bacille typhique* en pleine végétation ; le premier prend tellement le dessus qu'après quatre ou cinq jours il est impossible de l'isoler du *Bacille typhique* en cultures sur plaques ; toutes les colonies donnent de l'indol et font fermenter le lactose. L'emploi des nouvelles méthodes, du procédé d'Elsner en particulier (p. 726), permettra de retrouver plus fréquemment le *Bacille*

(1) Karlinski, *Przeglad Lekarski*, 1889.

(2) Wathelet, Recherches bactériologiques sur les déjections dans la fièvre typhoïde (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 252).

(3) Nicolle, Impossibilité d'isoler, par les méthodes actuelles, le Bacille typhique en présence du *Bacterium coli* (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 854).

typhique dans le contenu intestinal et de revenir aux anciennes idées.

Le *Bacille typhique* peut en outre se rencontrer dans beaucoup d'autres tissus, organes, liquides, sérosités, particulièrement lors de complications, si fréquentes dans la fièvre typhoïde, dont il sera parlé plus loin (p. 714).

Il est difficile de préciser le temps pendant lequel le *Bacille typhique* peut se conserver vivant dans les matières fécales. Bien des facteurs peuvent en effet influer sur le résultat. Le plus important paraît être le développement abondant des microbes des putréfactions qui peuvent faire disparaître plus ou moins rapidement ce microbe. D'après Karlinski (1), on ne le retrouverait plus au bout de trois mois.

La question de la persistance du Bacille dans les cadavres enterrés est d'un très haut intérêt. Lösener (2), expérimentant sur des cadavres de porcs largement souillés de Bacilles typhiques, n'a pu retrouver le microbe qu'une fois sur treize opérations, après quatre-vingt-seize jours d'enfouissement dans un terrain sableux. Klein (3), se servant de cobayes, pense qu'on peut encore le rencontrer vivant pendant une période variant de quinze à vingt jours ; après vingt jours, les résultats sont constamment négatifs.

Bacille typhique dans l'organisme sain.

Jusqu'ici le *Bacille typhique*, considéré comme pathognomonique de la fièvre typhoïde, ne semblait pouvoir se rencontrer dans l'organisme que lors de l'infection spécifique. En usant de la méthode de recherche imaginée par Elsner, qui sera décrite plus loin en parlant de la recherche de ce Bacille dans différents milieux (p. 727), Remlinger et Schneider (4) disent avoir pu constater dans les selles d'hommes sains, n'ayant jamais été atteints de fièvre typhoïde, ou dans les selles d'individus souffrant d'affections tout autres, impaludisme, leucémie, néphrite, la présence d'un Bacille présentant tous les caractères du *Bacille d'Eberth*. Par injection de plusieurs cultures, ils ont pu déterminer la fièvre typhoïde expérimentale chez le cobaye ; l'inoculation préventive de sérum antityphique les préservait constamment. Il semble bien que ces expérimentateurs aient eu affaire au vrai *Bacille typhique* qui devrait alors être considéré comme pouvant être un hôte habituel de l'intestin, ce qui serait un puissant argument en faveur de l'auto-infection de la fièvre typhoïde. Des résultats d'une si haute importance demandent naturellement encore confirmation.

Bacille typhique dans le milieu extérieur.

En dehors de l'homme et principalement de l'homme atteint de fièvre

(1) Karlinski, Recherches sur la façon dont se comporte le Bacille typhique dans les matières fécales (*Przeglad Lekarski*, 1889).

(2) Lösener, Ueber das Verhalten von pathogenen Bakterien in beerdighen Kadavern und über die dem Erdreiche und Grundwasser von Solchen Gräbern angeblich drohenden Gefahren (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, XII, 1895, p. 448).

(3) Klein, Zur Kenntniss des Schicksals pathogener Bakterien in der beerdigten Leiche (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 737).

(4) Remlinger et Schneider, Sur la présence du Bacille d'Eberth dans l'eau, le sol et les matières fécales de sujets non atteints de fièvre typhoïde (*Soc. de Biol.*, 18 juillet 1896) ; et : Contribution à l'étude du Bacille typhique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1897, p. 55).

typhoïde, le *Bacille typhique* a surtout été rencontré dans l'eau ; c'est une preuve, de très grande valeur certainement, du rôle que l'eau, de boisson particulièrement, doit jouer dans la contagion de la maladie. Non pas qu'on puisse soutenir que c'est là le seul mode de propagation des épidémies ; il est au contraire plus rationnel d'admettre la possibilité d'autres voies.

Les cas de constatation du *Bacille typhique* dans l'eau sont nombreux aujourd'hui ; beaucoup d'expérimentateurs ont pu l'isoler d'eaux de diverses provenances ; dans bien des cas sa présence était en rapport avec l'apparition de la fièvre typhoïde. Pour pas mal de déterminations un peu anciennes, il faut cependant tenir compte de ce qu'on savait moins bien qu'aujourd'hui le différencier de certains types du *Colibacille* et que, dès lors, il y a pu avoir parfois confusion avec cette dernière espèce. Quoi qu'il en soit, il est absolument acquis que le *Bacille d'Eberth* peut se trouver dans l'eau. Nous verrons plus loin la marche à suivre pour en faire la recherche et le diagnostic.

La manière dont il se comporte dans ce milieu a été l'objet de recherches nombreuses.

D'après Meade-Bolton (1), le *Bacille typhique* meurt au bout d'une vingtaine de jours, à une température de 20°, dans diverses eaux potables et dans l'eau distillée, préalablement stérilisées.

Wolfhügel et Riedel (2), en ensemençant ce microbe dans de l'eau de rivière stérilisée, pure ou même additionnée de très fortes proportions d'eau distillée, ont observé au début une très forte multiplication à une température de 16°, puis une diminution et enfin une disparition complète dans un délai de vingt et un à trente-deux jours. Dans l'eau distillée pure, on observe dès le début une décroissance, qui va alors en augmentant ; il s'en trouvait encore quelques-uns de vivants après vingt jours.

Les expériences de Straus et Dubarry (3) sont beaucoup plus précises. Ils ont opéré sur l'eau de l'Ourcq, très riche en matières organiques, l'eau de la Vanne, assez pure, et l'eau distillée, toutes stérilisées au préalable. L'eau distillée ne s'est montrée stérile qu'au bout de soixante-neuf jours, l'eau de la Vanne au bout de quarante-trois jours, l'eau de l'Ourcq au bout de quatre-vingt-un jours.

Chantemesse dit avoir conservé du *Bacille typhique* vivant pendant trois mois dans de l'eau de rivière stérilisée.

Les choses se passent toutefois différemment dans la nature, où le *Bacille typhique*, arrivé dans l'eau, se trouve en concurrence avec les Bactéries saprophytes qui se rencontrent, parfois en très grand nombre, dans ce milieu. Et ici on peut moins encore que précédemment énoncer des données d'une portée générale, parce que les résultats dépendent, pour une bonne part, des espèces microbiennes qui se rencontrent dans l'eau en question, de la composition elle-même de ce liquide, et enfin des influences diverses de milieu.

(1) Meade-Bolton, Ueber das Verhalten verschiedener Bakterien-Arten im Trinkwasser (*Zeitschr. für Hygiene*, I, p. 115).

(2) Wolfhugel et Riedel, Die Vermehrung der Bakterien im Wasser (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1886, p. 455).

(3) Straus et Dubarry, Recherches sur la durée de la vie des microbes pathogènes dans l'eau (*Arch. de méd. expér.*, I, 1889).

Hüppe (1), dans une série d'expériences, a obtenu les résultats suivants :

	A l'origine.	1 jour.	5 jours.	10 jours.	20 jours.	30 jours.
Bacilles typhiques.	1 600	76	95	96	70	70
Bactéries de l'eau..	720	12 000	160 000	240 000	700 000	50 000

On voit ici que le *Bacille typhique* cède nettement le pas aux espèces saprophytes de l'eau qui se multiplient proportionnellement bien mieux que lui.

Karlinski (2), en opérant sur un puits de l'Institut d'hygiène de Munich, a observé une disparition assez rapide du *Bacille typhique* de l'eau de ce puits. Dans une de ses expériences, il mélangea à l'eau du puits 5 litres de bouillon de culture dont 1 centimètre cube contenait environ 72 millions de Bacilles. Au bout de deux heures, les cultures sur plaques de l'eau de puits décelèrent 500 000 Bacilles typhiques par centimètre cube et pas d'autres Bactéries de l'eau. Au bout d'un jour, il trouve 130 000 Bacilles typhiques et de 11 à 13 000 Bactéries de l'eau par centimètre cube. Après trois jours, 110 000 colonies et seulement 18 000 ayant l'aspect du Bacille typhique. Au quatrième jour, 100 000 colonies dont 9 400 semblables à celles du Bacille typhique. Au septième jour, 80 000 colonies, 200 seulement pouvant appartenir à l'espèce en expérience. Au onzième jour, 7 000 colonies, 5 pouvant être du Bacille typhique. Au quatorzième jour, plus que 900 colonies dont aucune de Bacille typhique.

Mais, dans ces expériences, Karlinski n'a pas fait la diagnose exacte du *Bacille typhique* des nombreuses espèces de l'eau qui donnent des colonies de même aspect, et en particulier du *Colibacille* ; de plus, il n'a pas tenu compte de circonstances qui peuvent jouer un grand rôle dans la durée de la persistance des germes de l'eau, entre autres de la précipitation au fond de beaucoup d'éléments et surtout des spores, si tant est qu'elles existent. C'est ce que démontre très bien l'expérience suivante de Chantemesse et Widal : Un ballon contenant une légère couche de sable est rempli d'eau de rivière stérilisée et ensemencé avec une culture de *Bacille typhique*. Après deux mois environ, on n'en rencontre plus dans l'eau prélevée avec soin. Si l'on décante doucement et qu'on remplace l'eau enlevée par de la nouvelle soigneusement stérilisée, on obtient des colonies de *Bacille typhique* en mettant de cette eau en culture. Les mêmes phénomènes peuvent parfaitement se passer dans les réservoirs d'eau, puits ou citernes ; c'est ce qui peut expliquer la réapparition de la fièvre typhoïde après un curage ou une crue. Le *Bacille typhique* résiste très bien à la congélation ; on en a rencontré plusieurs fois dans des échantillons de glace. La glace provenant d'une eau souillée peut donc transmettre la fièvre typhoïde.

Jusqu'ici, on n'est pas encore parvenu à isoler le *Bacille typhique* de l'air ; Chantemesse et Widal, entre autres, ont échoué, bien qu'ils se fussent placés dans des conditions exceptionnellement favorables. Il doit cependant s'y rencontrer, adhérent aux poussières en suspension, mais n'y garde pas longtemps sa vitalité.

(1) Hüppe, *Schilling's Journal*, 1887, cité *in* Thèse de Gasser, p. 94.

(2) Karlinski, Ueber das Verhalten des Typhusbacillus im Brunnenwasser (*Arch. für Hygiene*, IX, 1889, p. 432).

Il paraît devoir être très répandu dans le sol. Il n'y a cependant pas été signalé souvent, sans doute à cause des difficultés que présente sa recherche. Tryde et Salomonsen (1) l'ont isolé, en 1885, du sol d'une caserne où sévissait la fièvre typhoïde. Je l'ai retrouvé (2), en 1888, dans de la terre prise à 1 mètre de profondeur autour d'un puits dont l'eau avait été soupçonnée à juste titre ; la terre, et l'eau ensuite, avaient été souillées par les latrines situées à peu de distance. En usant de la méthode d'Elsner, Remlinger et Schneider (3) l'ont isolé six fois sur dix échantillons de terre provenant de cours, de jardins. Sanglé-Ferrière et Remlinger (4) l'ont trouvé dans les poussières de chambres de casernes où s'observait une épidémie de fièvre typhoïde.

Rôle pathogénique.

En somme, d'après ce qui a été dit, on peut considérer le rôle du *Bacille d'Eberth* dans l'étiologie de la fièvre typhoïde comme démontré. Le microbe pénètre dans un organisme réceptif par un point, qui semble être, la plupart du temps au moins, le tube digestif ; il pullule et envahit le système lymphatique où se trouvent ses localisations d'élection (p. 703). Il se généralise dans le système lymphatique, envahit les séreuses et principalement la séreuse péritonéale, peut même arriver dans le sang. Dès que l'envahissement du système lymphatique est fait, dès que le Bacille a passé dans le sang, il se localise. C'est à ce moment qu'apparaissent les taches rosées, l'augmentation de volume de la rate. Il produit sa toxine qui va agir, comme en général les poisons microbiens, sur le système nerveux, et plus spécialement sur les muqueuses, en produisant son action nécrosante, si manifeste surtout sur la muqueuse intestinale.

Après la terminaison du processus typhoïdique, le Bacille peut disparaître ou rester vivant dans l'organisme, pendant un long temps parfois cantonné en des points particuliers. On l'a retrouvé des mois après la guérison dans des foyers de suppuration, dans les voies biliaires atteintes d'inflammations chroniques.

C'est à cette persistance du virus qu'on doit attribuer les *rechutes*, trop fréquentes dans la maladie. Le Bacille, cantonné dans un point limité, peut, sous certaines influences, l'affaiblissement de l'organisme, ou, comme le montrent les expériences précédemment citées de Sanarelli (Voy. p. 697), par un apport de toxines adjuvantes, celles du *Colibacille* ou du *Proteus vulgaris* qui peuvent être produites dans l'intestin même, reprendre de l'activité et produire une nouvelle généralisation

D'où peut maintenant venir le microbe infectant ? Nous l'avons vu très répandu dans le milieu extérieur, provenant, on peut le croire, de cas antérieurs de fièvre typhoïde. Jusqu'ici, ce sont les selles des typhi-

(1) Tryde et Salomonsen, *Soc. de méd. de Copenhague*, 9 décembre 1884.

(2) Macé, Sur la présence du Bacille typhique dans le sol (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 28 mai 1888).

(3) Remlinger et Schneider, *loc. cit.*, voy. p. 707.

(4) Sanglé-Ferrière et Remlinger, Présence du Bacille d'Eberth dans les poussières d'un casernement atteint de fièvre typhoïde (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 26 janvier 1897, p. 18).

ques qui paraissent surtout véhiculer et disséminer le contage; les urines doivent aussi avoir une grande part dans la dissémination. Il peut encore provenir du sang, des produits d'expectoration, de l'ouverture de foyers de suppuration, etc. Au sortir du corps, il se mêle au milieu extérieur, aux poussières, au sol, à l'eau. Il y reste vivant pendant un temps plus ou moins long, perdant souvent de sa virulence, mais pouvant la garder assez longtemps quand les circonstances sont favorables.

Comme on l'a surtout rencontré dans l'eau, c'est ce milieu qu'on a surtout été porté à incriminer, et à juste titre, il semble. D'ailleurs, avant la connaissance du Bacille d'Eberth et sa constatation dans l'eau, l'observation clinique et l'étude détaillée de beaucoup d'épidémies avaient déjà apporté, à l'appui de cette opinion, des preuves tout à fait convaincantes. La découverte du *Bacille typhique* dans l'eau de boisson n'a fait que confirmer les idées les plus répandues et leur donner une base irréfutable. On trouvera ces faits discutés et exposés dans le mémoire de Chantemesse et Widal, dans la communication magistrale que Brouardel (1) a faite sur cette question au Congrès international de Vienne en 1887 et dans le beau livre de Brouardel et Thoinot (2).

Le rôle que joue ici le sol ne doit cependant pas être éclipsé par celui de l'eau; on le reconnaîtra comme au moins égal. Le sol est en effet le véritable réceptacle des produits pouvant véhiculer les virus; la plupart du temps c'est par son intermédiaire que l'eau est souillée. Le sol est, du reste, un très bon milieu pour la conservation du *Bacille typhique*; les expériences de Grancher et Deschamps (3) ont démontré péremptoirement que du *Bacille typhique*, imprégnant le sol, vit encore cinq mois et demi après son ensemencement, en pleine terre, au milieu d'un grand nombre d'autres organismes. C'est ce qu'ont confirmé les recherches de Robertson et Gibson (4). La durée de la résistance, dans ces conditions, est loin d'être fixe; elle dépend, en effet, d'un très grand nombre de conditions, sécheresse ou humidité, nature du sol, présence plus ou moins notable d'air, etc. Il est permis de penser que lorsque toutes les conditions convenables se trouvent réunies, le *Bacille typhique* peut se conserver pendant fort longtemps vivant dans le sol; c'est peut-être cette longévité qui est la cause de ces endémies de maisons, si fréquentes dans les grandes villes. De là, il revient facilement dans l'organisme. Il résiste longtemps à la dessiccation; il peut donc aisément se trouver vivant dans les poussières et revenir avec elles dans l'organisme par inhalation ou déglutition. A la surface, il est vrai, il trouve de nombreuses causes atténuantes actives, l'action des radiations lumineuses principalement, qui peuvent rapidement le détruire; mais il se conserve dans les couches plus profondes que les remaniements divers, si fréquents pour les sols des villes, font si facilement revenir au jour. De nombreuses observations démon-

(1) Brouardel, Des modes de propagation de la fièvre typhoïde (*VI[e] Congrès international d'hygiène et de démographie, tenu à Vienne en septembre 1887*; et: *Ann. d'hyg. publique*, XVIII, 3[e] série, p. 385).

(2) Brouardel et Thoinot, La fièvre typhoïde. Paris, J.-B. Baillière, 1895.

(3) Grancher et Deschamps, Recherches sur le B. typhique dans le sol (*Arch. de méd. expér.*, I, 1889, p. 33).

(4) Robertson et Gibson, *Brit. med. Journ.*, 1898.

trent l'influence certaine de ces remaniements de terrains souillés sur l'explosion d'épidémies typhoïdes. Les faibles exigences du microbe au point de vue des aliments, de l'oxygène, de la température, lui permettent de pulluler facilement dans les conditions ordinaires qu'il rencontre dans le sol. Les rapports intimes qui existent entre le sol et l'eau de boisson expliquent très bien le rôle considérable, mais secondaire, qui revient à l'eau dans la dissémination du *Bacille typhique* et la production des manifestations épidémiques ou endémiques de la fièvre typhoïde.

Le *Bacille typhique* peut être véhiculé par les aliments. Naturellement, on ne peut incriminer que les aliments qui se consomment crus; le microbe étant tué à des températures relativement basses, une coction, même modérée, le détruit sûrement. Il provient de souillures de ces substances par des excreta renfermant des germes typhiques, selles, urines, eaux d'égout surtout, mélange ou lavage à l'eau polluée. Certains légumes mangés crus, arrosés ou irrigués à l'eau d'égout, mais surtout cultivés dans des sols où l'on pratique l'épandage d'engrais humain, ont été spécialement incriminés.

Le lait additionné d'eau souillée semble bien pouvoir être mis en cause, comme l'indiquent plusieurs relations d'épidémies ayant sévi exclusivement dans la clientèle de laitiers chez lesquels s'étaient produits des cas de fièvre typhoïde et qui mélangeaient au lait de l'eau manifestement souillée (1). Le lait est d'ailleurs un fort bon milieu pour la pullulation rapide du microbe; Bolley et Field (2) ont montré qu'il pouvait y rester vivant pendant plusieurs mois, ainsi que dans la crème et le beurre.

Chantemesse (3) a signalé la possibilité de la transmission de la fièvre typhoïde par les huîtres ayant pu être souillées par le *Bacille typhique* en vivant dans une eau polluée comme l'est souvent celle des parcs de réserve ou de bassins situés près de l'embouchure de rivières ou de canaux qui charrient fréquemment des déjections de toutes sortes. D'autres observateurs ont pu depuis confirmer son assertion (4).

Reste maintenant la conception de l'*auto-infection typhoïde*, à laquelle, il faut le reconnaître, les constatations de la présence du *Bacille d'Eberth* dans les selles d'hommes sains n'ayant jamais eu la fièvre typhoïde, a apporté un important appui. Le germe, présent dans l'organisme normal, ne deviendrait virulent et infectant que dans certaines conditions, lorsque la résistance naturelle serait diminuée ou vaincue sous l'action d'influences affaiblissantes. Le *Bacille typhique* pourrait être un hôte quasi normal, un commensal très fréquent de

(1) Goyan, Épidémie de fièvre typhoïde transmise par le lait, observée à Clermont-Ferrand pendant les mois de décembre 1891 et janvier 1892 (*Revue d'hyg.*, 1892, n° 11). — Wilckens, Eine durch Milchinfektion hervorgerufene Typhusepidemie (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVII, 1898, p. 264).

(2) Bolley et Field, Bacillus typhi abdominalis in milk and butter (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., IV, 1898, p. 881).

(3) Chantemesse, De la transmission de la fièvre typhoïde par les huîtres (*Acad. de méd.*, 2 juin 1896).

(4) Foote, A bacteriologic study of ousters, with special reference to them as the source of typhoid infection (*The med. News*, 23 mars 1895). — Mosny, Des maladies provoquées par l'ingestion des mollusques; études sur la salubrité des établissements ostréicoles (*Revue d'hygiène*, 1899 et 1900).

l'organisme, tout comme le *Pneumocoque*, le *Streptocoque pyogène* par exemple ; habituellement inoffensif, il ne deviendrait pathogène que dans certaines conditions, à l'exemple des microbes précédents. Il faut reconnaître qu'on expliquerait ainsi, d'une façon satisfaisante, la production de cas isolés ou de petites épidémies de fièvre typhoïde où l'importation du germe ne peut pas se trouver. La fièvre typhoïde, cliniquement, pourrait avoir une double origine, la contagion d'une part, de l'autre la spontanéité apparente, c'est-à-dire le passage à l'état virulent d'un germe ubiquitaire (1).

Si l'on admet, avec G. Roux et Rodet, l'identité du *Bacille typhique* et du *Colibacille*, c'est cette dernière conception qui devrait dominer dans l'étiologie de la fièvre typhoïde. Le *Colibacille* est en effet très commun dans le milieu extérieur ; il est l'hôte habituel de tout le canal digestif de l'homme, d'ordinaire dépourvu de virulence, mais pouvant en gagner, comme le prouve l'expérimentation, à la moindre déviation fonctionnelle de l'organe. On verra, par l'histoire des deux microbes, qu'on n'est pas encore en mesure d'affirmer leur identité.

Prophylaxie.

On peut, de ces données, tirer des déductions importantes pour la prophylaxie de la fièvre typhoïde. La plupart du temps au moins, la fièvre typhoïde se transmet par contagion d'un virus provenant de typhiques. Le typhique peut disséminer les germes de l'affection dont il est atteint par ses matières fécales et ses urines d'abord : cela paraît être le point le plus important ; ensuite, mais secondairement pour beaucoup, par le sang, les produits d'expectoration, le pus de certains abcès. Le virus, ainsi émis au dehors, peut se conserver vivant dans le milieu extérieur ; c'est le sol qui lui semble le milieu le plus favorable pour sa conservation. Il revient à l'organisme par des voies diverses : il arrive surtout dans l'intestin avec l'eau de boisson. Si l'individu se trouve en état de réceptivité, l'infection se produit et suit son cours.

Un fait cité par Petruschky (2) est des plus intéressants à cet égard Un typhique urine dans une bouteille qui est mise par mégarde sur la table ; sa sœur, étonnée de l'aspect trouble du liquide qu'elle prenait pour du vin blanc, voulut le goûter avant d'en donner au malade. Bien qu'elle eût été prise aussitôt de vomissements, elle tomba malade de fièvre typhoïde après une incubation de douze jours.

Il faut dès lors veiller soigneusement à la désinfection des produits venant des typhiques, particulièrement les matières fécales et les urines, éviter les souillures du sol, surtout quand ces souillures peuvent avoir une répercussion sur l'eau qui sert à la boisson.

Complications. Infections secondaires. Associations microbiennes.

Les *complications* sont extrêmement fréquentes dans la fièvre.

(1) Kelsch, Considérations critiques sur la contagion et l'origine des maladies infectieuses (*Acad. de méd.*, 22 décembre 1896).

(2) Petruschky, Ueber Massenausscheidung von Typhusbacillen durch den Urin von Typhus-Rekonvalescenten und die epidemiologische Bedeutung dieser Thatsache (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 577).

typhoïde; elles peuvent apparaître à toutes les phases de la maladie, aussi bien au début que tardivement. Il en est qui peuvent ne survenir qu'après la guérison. Dans ces complications, les unes sont dues au *Bacille d'Eberth* lui-même. Il peut déterminer des pleurésies, des péritonites, des méningites, ce qui s'explique en raison de sa prédilection pour les surfaces séreuses ; des localisations pulmonaires, de vraies pneumonies typhiques ; de l'endocardite, de la myocardite, occasionnant la dégénérescence du muscle cardiaque, cause de la mort subite ; de la phlegmatia alba dolens, qui, dans la fièvre typhoïde, peut être sous la dépendance du Bacille typhique seul et non pas toujours due à des infections secondaires (1) ; des troubles hépatiques divers, des néphrites, orchites, ovarites, salpingites, thyroïdites, indiquant bien la prédilection pour les parenchymes ; des ostéites, et ici les recherches expérimentales démontrent que chez les animaux la moelle osseuse est un véritable lieu d'élection pour le Bacille typhique, c'est là qu'on le retrouve toujours en dernier lieu dans l'organisme ; enfin, des suppurations diverses, parfois à longue échéance, dans le pus desquelles l'examen attentif ne fait déceler que le *Bacille typhique*.

Bien des complications, cependant, sont dues à la présence d'autres microbes, à de véritables *infections secondaires*. L'infection typhique semble préparer le terrain, de manière à permettre la pénétration et la pullulation dans l'organisme d'autres germes pathogènes ; l'*association microbienne* détermine une *infection mixte* (2). On peut rencontrer un certain nombre de ces autres microbes.

Le *Colibacille* semble jouer ici le rôle prédominant. Le fait n'a rien d'étonnant ; les observations ont démontré depuis longtemps la pullulation excessive de ce microbe dans l'intestin pendant la fièvre typhoïde et son exaltation de virulence due probablement à l'altération de l'organe sous l'influence de la toxine typhique. Ces altérations intestinales sont en outre autant de portes d'entrée possibles pour l'infection secondaire. C'est la cavité abdominale qui est la plus exposée à l'invasion ; aussi c'est elle qui présente les lésions colibacillaires les plus fréquentes, péritonites, angiocholites principalement. Plus rarement, l'infection est plus envahissante ; on a observé, dans le cours de la fièvre typhoïde, des méningites, des suppurations dues au *Colibacille*. La généralisation dans le sang semble toutefois assez rare ; on remarque même que, dans la fièvre typhoïde, le *Colibacille* envahit moins vite les parenchymes, la rate principalement, que dans les conditions ordinaires ; c'est ce qui permet d'isoler assez facilement le *Bacille typhique* dans les autopsies même faites un certain temps après la mort. Dans les lésions, on peut rencontrer le *Colibacille* seul ou en compagnie du *Bacille typhique*, formant peut-être une véritable *association microbienne*.

Vient, en seconde ligne comme importance, le *Streptocoque pyogène*. Sur 31 autopsies de fièvre typhoïde, Vincent (3) l'a rencontré 6 fois mélangé au *Bacille typhique*. L'étude attentive de ces cas lui a permis

(1) Haushalter, *Revue méd. de l'Est*, 1er septembre 1893.

(2) Spillmann et Widal, Les associations microbiennes et les infections mixtes (*Rapports au Congrès de méd. de Montpellier*, 1898).

(3) Vincent, Étude sur les résultats de l'association du Streptocoque et du B. typhique chez l'homme et chez les animaux (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893).

de les classer en deux catégories. Dans l'une, le Streptocoque est intervenu dans le cours même de la maladie, produisant une véritable infection secondaire. Dans l'autre, il paraît y avoir eu infection mixte primitive ou d'emblée. Les infections secondaires ont sous leur dépendance certaines suppurations, certaines pleurésies, certaines pneumonies, l'érysipèle, les angines, les otites, où se retrouve facilement le Streptocoque. L'infection mixte d'emblée est le plus souvent une véritable *septicémie strepto-typhique*, présentant un mélange de caractères de la fièvre typhoïde et de la septicémie chirurgicale. Vincent a du reste démontré expérimentalement que l'association du Streptocoque exalte considérablement la virulence du Bacille d'Eberth ; on sait, d'ailleurs, que le même résultat peut être obtenu avec les seuls produits solubles du premier microbe.

Les *Staphylocoques pyogènes* ont sous leur dépendance bien des accidents de suppuration survenant dans le cours de la fièvre typhoïde ou post-typhiques. D'après E. Fraenkel (1), les ulcérations typhoïdes du larynx et du pharynx sont dues au *Micrococcus pyogenes aureus*. Les *Staphylocoques* peuvent être seuls ou accompagnés du *Bacille typhique*. D'un autre côté, le *Bacille typhique* seul peut être nettement pyogène, comme l'ont démontré Honl (2) et bien d'autres.

L'association du *Pneumocoque* au *Bacille typhique* s'observe aussi fréquemment, produisant une forme clinique assez spéciale que l'on nomme la *pneumo-typhoïde*, résultat des infections pneumococcique et typhique simultanées.

Remlinger (3) a signalé l'association avec le *Bacille pyocyanique*.

D'autres microbes peuvent encore profiter de la diminution de résistance de l'organisme et s'implanter quelque part en modifiant dans divers sens l'évolution de l'affection. De simples saprogènes peuvent causer des gangrènes souvent graves.

On peut enfin observer des infections simultanées, évoluant à côté de la fièvre typhoïde avec leurs caractères spéciaux, n'imprimant pour ainsi dire pas de modifications au type normal de la maladie. On peut citer le choléra, la diphtérie, la scarlatine, la rougeole.

Recherche et diagnostic.

On peut avoir à rechercher le *Bacille typhique* sur le cadavre à l'autopsie pour confirmer un diagnostic, sur l'individu vivant pour établir un diagnostic certain quand le cas est douteux, dans le milieu extérieur pour rechercher l'origine possible d'une infection typhoïde et prendre les mesures de prophylaxie utiles pour en empêcher l'extension.

Recherche sur le cadavre.

Nous savons que le *Bacille typhique* est d'ordinaire abondant dans certains organes des typhiques. A l'autopsie, Gaffky l'a trouvé vingt-six fois sur vingt-huit cas, Seitz vingt fois sur vingt-quatre, dans des

(1) E. Fraenkel, *Deutsche med. Wochenschr.*, 10 février 1887.
(2) Honl, Opyogenn'ch vlastostech Bacilla typového. Prague, 1893.
(3) Remlinger, Sur un cas d'infection mixte par le B. d'Eberth et par un B. pyocyanique non chromogène (*Arch. de méd. expér.*, X, 1898, p. 167).

préparations de foie, de ganglions mésentériques et surtout de rate; Chantemesse et Widal l'ont isolé en cultures onze fois sur douze, Fraenkel et Simmonds (1) vingt-cinq fois sur vingt-neuf. La recherche réussit en général bien dans les délais habituels des autopsies. Il paraît être d'autant plus abondant dans les organes que la mort est arrivée tôt après le début de l'affection. On l'isole plus facilement, lorsqu'il est rare, en provoquant sa pullulation par l'artifice suivant indiqué par Cornil : l'organe, la rate principalement, lavé avec soin au sublimé et entouré d'un linge mouillé avec de la liqueur de Van Swieten, est placé à l'étuve pendant un jour ou deux.

On peut rechercher le *Bacille typhique* par les cultures ou l'examen microscopique.

Les cultures faites avec les différents organes, d'après les procédés indiqués (p. 680 et suiv.), donnent les meilleurs résultats. On peut faire la culture en piqûre ou en strie sur gélatine, lorsqu'on est assuré de la pureté du milieu employé. Lorsqu'on croit à un mélange, on fait des cultures sur plaques ou on ensemence plusieurs tubes de gélose avec le même fil de platine sans le recharger. Les colonies isolées seront vérifiées et portées sur d'autres milieux.

Les lamelles chargées de produit à examiner sont colorées aux procédés habituels; la solution de Ziehl paraît donner ici les meilleurs résultats.

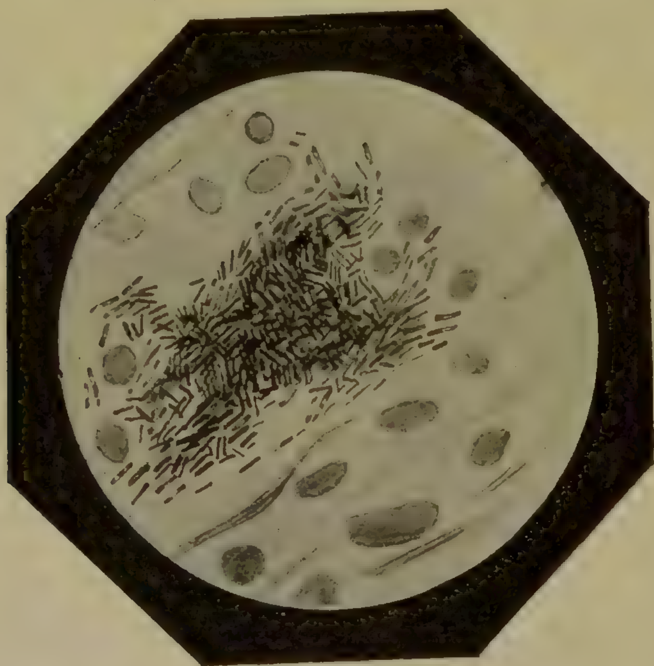


Fig. 260. — Amas de Bacilles typhiques dans la rate.

Les coupes sont colorées à la solution de Loeffler ou à la solution de Ziehl. On obtient de bons résultats, pour l'étude des coupes de différents organes, en se servant de la méthode suivante, indiquée dans la thèse de Legry (2) : Laisser les coupes pendant cinq minutes environ dans

(1) Fraenkel et Simmonds, Die aetiologische Bedeutung des Typhusbacillus, 1886.
(2) Legry, Thèse de Paris, 1890.

une solution au centième de carbonate d'ammoniaque à laquelle on a ajouté une petite quantité (dix gouttes pour une vingtaine de centimètres cubes) d'une solution aqueuse saturée de bleu de méthyle. Laver les coupes pendant deux ou trois secondes dans une solution d'acide acétique à 1 p. 100. Passer à l'eau distillée. Déshydrater avec de l'huile d'aniline saturée de fluorescéine. Passer au xylol. Monter dans le baume. Les coupes sont teintes en bleu verdâtre clair, les Bacilles en bleu foncé.

Vaillard et Vincent (1) recommandent le procédé suivant pour la recherche du *Bacille typhique* dans le foie ou la rate : On recueille de la pulpe splénique ou du résidu d'organes broyés aseptiquement, dans une pipette stérilisée que l'on expose pendant quelques heures à 37° dans l'étuve. On fait avec le contenu de la pipette des frottis de lamelles que l'on teint au violet de gentiane, puis décolore par la méthode de Gram et recolore par la fuchsine phéniquée de Ziehl. Les Bacilles typhiques sont colorés en rouge, les autres restent teints en violet.

Les coupes montrent souvent nettement de petits amas bacillaires (fig. 260), qu'il est difficile toutefois d'attribuer d'une façon certaine au Bacille d'Eberth, bien des espèces des putréfactions, le *Colibacille*, donnant le même aspect. On peut déjà cependant constater la décoloration par la méthode de Gram.

Recherche sur le vivant.

Recherche du Bacille typhique dans le sang et les organes.

La présence du *Bacille typhique* est plus difficile à constater sur le vivant. Nous avons vu qu'il ne se trouvait que rarement et temporairement dans le sang de la circulation périphérique. On a conseillé, pour le rechercher et l'obtenir à peu près sûrement, de pratiquer une ponction de la rate et de mettre en culture le liquide obtenu. L'opération se fait facilement à l'aide d'un trocart capillaire. La situation de la rate étant bien établie par la percussion, la peau est soigneusement désinfectée; on enfonce le trocart stérilisé en pleine matité. La canule ramène une goutte de sang qui sert aux ensemencements. Le succès serait assuré vers le dixième jour de la maladie. L'opération, très simple, serait sans danger, dit-on. Elle n'est toutefois à conseiller que comme moyen d'exception ; les altérations de la rate dans le cours de la fièvre typhoïde, sa très grande friabilité surtout, peuvent être la cause d'accidents. On doit prendre en tous cas les précautions antiseptiques les plus minutieuses.

Recherche du Bacille typhique dans les matières fécales.

C'est un procédé de diagnostic qui serait précieux s'il était d'une application plus facile et surtout plus sûr. Si, toutefois, la constatation, faite par Remlinger et Schneider, de la présence du Bacille d'Eberth dans les selles d'individus sains ou n'ayant pas la fièvre typhoïde, se trouvait confirmée, l'isolement de ce microbe de selles d'individus suspects de

(1) *In* Thèse de Gasser, Paris, 1890.

fièvre typhoïde n'aurait plus la valeur diagnostique qu'on a voulu lui attribuer jusqu'ici.

Nous avons vu précédemment (p. 706) combien il était chanceux de parvenir à isoler le *Bacille typhique* des matières fécales de malades atteints de fièvre typhoïde. La difficulté est due d'abord à ce que ce microbe ne passe peut-être pas aussi constamment dans la cavité intestinale qu'on le pensait autrefois, mais aussi à la présence du *Colibacille*, et ici en telle abondance qu'on n'obtient que lui en cultures comme représentant de la flore microbienne de l'intestin. Cette présence du *Colibacille* rend très difficile, impossible même pour plusieurs (1), l'isolement du *Bacille typhique*.

Les recherches de Chantemesse et Widal, de Wathelet (2), de Karlinski (3), de Remlinger et Schneider (4), prouvent cependant que la chose est possible; elle demande toutefois beaucoup de soin.

On peut y parvenir à l'aide des cultures sur plaques faites de la manière ordinaire, en ayant soin cependant de pousser loin la dilution pour que les colonies soient assez espacées et ne se gênent pas dans leur croissance. La grande majorité des colonies obtenues appartient au *Colibacille*. Comme on ne peut ensemencer pour vérification qu'un certain nombre de colonies, il faut faire un choix en se guidant sur quelques caractères apparents. Le *Colibacille* poussant plus rapidement que le *Bacille typhique*, il faut choisir les colonies les moins avancées en développement, et, parmi celles-ci, les plus fines et les plus translucides. Ces colonies sont ensemencées sur les milieux qui permettent, comme nous le verrons plus loin, de différencier assez aisément le *Bacille typhique* du *Colibacille* (p. 726).

Chantemesse et Widal ont recommandé l'emploi de la gélatine phéniquée. On ajoute à la gélatine fondue quelques gouttes d'une solution d'acide phénique à 5 p. 100, cinq gouttes pour 10 centimètres cubes environ; on ensemence en faisant des dilutions suffisantes, et on coule en plaques. La proportion d'acide phénique suffit à entraver ou retarder beaucoup le développement des saprophytes, en particulier des espèces liquéfiantes qui détruisent si vite les cultures sur plaques; elle est à peu près sans effet sur le développement du *Colibacille* et du *Bacille typhique*.

L'emploi de la *gélatine d'Elsner* (Voy. plus loin, p. 727) permettrait d'isoler facilement le *Bacille typhique* des selles; ce procédé pourrait alors rendre de bons services en clinique. C'est à l'aide de ce procédé que Remlinger et Schneider ont pu constater la présence du Bacille d'Eberth dans des selles d'individus sains, ce qui diminue singulièrement la valeur diagnostique de ce caractère.

(1) Grimbert, Sur la recherche du B. d'Eberth dans les eaux (*Soc. de Biol.*, 12 mai 1874). — Nicolle, Nouveaux faits relatifs à l'impossibilité d'isoler, par les méthodes actuelles, le B. typhique en présence du *Bacterium coli* (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894).

(2) Wathelet, Recherches bactériologiques sur les déjections dans la fièvre typhoïde (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 252).

(3) Karlinski, Untersuchungen über der Verhalten der Typhusbacillus in typhösen Dejectionen (*Centralbl. für Bakt.*, VI, 1889, p. 65).

(4) Remlinger et Schneider, Contribution à l'étude du B. typhique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 55).

Recherche dans le milieu extérieur.

C'est surtout dans l'eau et le sol qu'il peut être important de rechercher le Bacille d'Eberth dans le milieu extérieur, à cause du rôle qu'il peut alors jouer dans l'extension de la fièvre typhoïde.

Recherche du Bacille typhique dans l'eau.

L'observation et l'étude de la marche de bien des épidémies ayant démontré la part qui revient à l'eau de boisson dans la transmission de la fièvre typhoïde, on comprend que l'attention des bactériologistes ait été vite attirée sur ce point. Les premières constatations annoncées sont celles de Moers (1) et de Michael (2), trouvant le *Bacille typhique* dans des eaux de puits, celles plus complètes de Chantemesse et Widal (3) signalant le même microbe dans l'eau d'une borne-fontaine de Paris, dans l'eau d'un puits de Pierrefonds, dans la vase d'un réservoir à Clermont-Ferrand. Ce sont ces derniers auteurs qui ont véritablement érigé en méthode la recherche du *Bacille typhique* dans l'eau. Depuis, de très nombreux expérimentateurs ont signalé, dans des eaux de provenances très diverses, suspectes ou paraissant à l'abri de tout soupçon, la présence du même microbe.

Toutefois, la plupart de ces constatations ont été faites à un moment où le diagnostic si délicat du *Bacille typhique* et du *Colibacille* était moins bien établi qu'aujourd'hui. Il est très probable que bien des fois c'est le *Colibacille* qui a été isolé et donné comme *Bacille d'Eberth.*

Les expériences de laboratoire, spécialement celles de Grimbert et de Wathelet, dont il a été parlé précédemment, semblent démontrer l'impossibilité d'isoler le *Bacille typhique*, en présence du *Colibacille.* Grimbert ajoute à 1 litre d'eau stérilisée 1 centimètre cube d'une culture bien vivante de *Bacille typhique* et seulement deux gouttes d'une culture de *Colibacille*; trois jours après, les recherches minutieuses n'y décèlent que du *Colibacille*, malgré la proportion beaucoup plus grande du *Bacille typhique* ajoutée. Wathelet a obtenu des résultats tout à fait semblables en faisant, dans des bouillons, des ensemencements simultanés des deux espèces; le *Colibacille* a toujours pris le dessus et a pu être seul décelé, à l'exclusion complète du *Bacille typhique*, au bout de quelques jours.

Ces résultats doivent certainement donner à réfléchir. S'ils diminuent l'importance de la recherche du *Bacille d'Eberth* dans l'eau, ils augmentent par contre, et considérablement, celle de la constatation du *Colibacille* dans ce milieu. Toujours, en effet, de par son origine fécaloïde, le *Bacille typhique* arrivant dans l'eau est accompagné du *Colibacille*; ce dernier est même beaucoup plus abondant dans les selles typhiques, comme le démontre l'expérimentation; il doit donc, plus facilement encore que dans les expériences précitées, étouffer le premier. De là suit que la seule constatation du *Colibacille* dans une eau doit faire penser à la présence possible du *Bacille typhique*

(1) Moers, Der Brunnen der Stadt Mülheim am Rhein vom bacteriologischen Standpunkt aus betrachted (*Centralbl. für allgem. Gesundheitspflege*, 1886).
(2) Ivan Michael, Typhusbacillus im Trinkwasser (*Fortschr. der Med.*, 1886, p. 353).
(3) Chantemesse, Traité de médecine de Charcot et Bouchard, I, p. 719.

et peut suffire à faire regarder l'eau comme suspecte au point de vue de la fièvre typhoïde. La marche à suivre dans l'opération est du reste identique. On se servira, pour distinguer les deux microbes et aussi quelques espèces que certains caractères communs pourraient faire confondre à un examen superficiel, des particularités et signes distinctifs qui seront exposés et discutés ci-après.

La méthode ordinaire des cultures sur plaques (Voy. p. 222), peut servir. La plupart du temps, cependant, la présence d'un trop grand nombre de Bactéries, dont plusieurs liquéfient très vite la gélatine, ne permet pas d'arriver facilement à un résultat. Dans les eaux relativement pures, il est cependant possible de réussir.

On obvie en partie à ces inconvénients, en employant une modification imaginée par Chantemesse et Widal, mettant à profit la résistance relative des microbes recherchés à de faibles proportions d'acide phénique.

On ajoute à l'eau à étudier une petite quantité d'acide phénique, 1 pour 600 d'eau environ, ou mieux une goutte d'eau phéniquée à 5 p. 100 à la gélatine qui sert aux ensemencements ou aux dilutions. L'addition d'acide phénique entrave la végétation de beaucoup d'espèces, retarde en particulier beaucoup la production de la liquéfaction de la gélatine par certaines, et n'influe guère sur le développement de quelques autres, en particulier le *Colibacille* et le *Bacille typhique* dont les colonies prennent leurs caractères habituels.

En maintenant les cultures sur plaques à une température de 15° à 18°, on voit apparaître dans la gelée de nombreuses petites colonies dès la fin du deuxième jour. Pour pouvoir se prononcer avec une *certaine probabilité*, il faut laisser le développement se continuer jusqu'au troisième ou quatrième jour, en maintenant les cultures à la température indiquée ; si la température est plus basse, le développement est naturellement plus lent. En examinant alors les plaques à l'œil nu, puis à un faible grossissement, on peut apercevoir des colonies présentant l'aspect de celles du *Bacille typhique*, telles qu'elles ont été décrites précédemment (p. 681). On peut rencontrer les colonies typiques, transparentes, irisées, semblables à de petites montagnes de glace. La recherche de ces dernières se fait même plus facilement à l'œil nu qu'à la loupe ou au microscope, surtout en éclairant la surface de la plaque par réflexion, pour mieux accentuer l'irisation qui fait rapidement distinguer la colonie. Lorsque ces colonies deviennent vieilles, leur centre s'opacifie, prend une teinte un peu jaunâtre ; la zone marginale seule garde sa minceur, sa transparence et sa teinte bleuâtre.

Mais l'aspect seul des colonies en cultures sur plaques est loin de suffire pour établir un diagnostic certain. Plusieurs autres espèces, en effet, abondantes dans l'eau, offrent des caractères très voisins ou même identiques. Il faut alors s'aider de tous les autres caractères de forme et de culture. Ce n'est souvent que par une étude longue et minutieuse qu'on peut être en droit de porter un diagnostic assuré. Nous verrons plus loin quels sont les caractères qui permettent de distinguer le *Bacille typhique* d'un certain nombre d'espèces à caractères assez voisins, en particulier du *Colibacille*.

En se basant sur la propriété qu'a le *Bacille typhique* de végéter à

une température relativement élevée, jusqu'à 45°, alors que la plupart des autres Bactéries de l'eau ne se multiplient pas, Rodet (1) a proposé de le rechercher dans ce liquide en mettant en culture dans du bouillon, conservé à 45° dans une étuve, une assez forte proportion, une vingtaine de gouttes par exemple. Si le bouillon se trouble, dit cet expérimentateur, il contient du *Bacille typhique* ou quelques autres espèces que l'on peut reconnaître en faisant des cultures sur plaques.

Procédé de Vincent. — Vincent (2) a heureusement modifié ce procédé en faisant intervenir, outre l'action de la haute température, l'action de l'acide phénique à faibles doses dont Chantemesse et Widal avaient antérieurement tiré profit. Voici la technique qu'il indique : On ensemence avec une petite quantité, une à vingt gouttes, de l'eau à examiner, cinq à six tubes de bouillon auxquels on a ajouté une goutte de solution d'acide phénique à 5 p. 100 pour 2 centimètres cubes de bouillon ; on couvre d'un capuchon et on porte à l'étuve ou au bain-marie à 45°. De huit à douze heures après, le bouillon peut se troubler; on ensemence alors une goutte du liquide dans cinq ou six tubes de bouillon phéniqué préparés comme les premiers, qu'on porte à 42°. En même temps, on ensemence des milieux habituels, gélatine et pomme de terre.

En ensemençant une série de tubes avec une quantité graduellement croissante de l'eau à examiner, 1, 2, 5, 10, 15, 20, 40 gouttes, par exemple, on peut avoir des renseignements précieux sur la répartition proportionnelle des microbes que l'on isole ainsi, dans l'eau à examiner.

On fait successivement plusieurs passages sur bouillon phéniqué en s'attachant à ensemencer dans du nouveau bouillon dès que le trouble apparaît dans la culture précédente; souvent, surtout quand il existe du *Colibacille* ou du *Bacille typhique*, le trouble est déjà apparent au bout de six heures dans ces cultures d'ensemencement. On parvient ainsi à éliminer aisément d'autres espèces qui, se développant moins vite, n'ont pas encore apparu, et à obtenir en culture pure le *Colibacille* ou le *Bacille typhique* après deux ou trois passages.

Cependant, comme l'expérience démontre amplement que le *Colibacille* pousse toujours et plus rapidement que le *Bacille typhique* dans un mélange, il serait préférable d'ensemencer de nouveaux tubes non pas dès que le trouble apparaît, mais lorsque la culture est déjà bien développée, comme l'indique Brochard (3).

De même, pour l'isolement de ces deux espèces en mélange, par les divers procédés de cultures sur plaques, il faut aussi attendre le plein développement des cultures.

Nous verrons plus loin quelles sont les espèces qui peuvent se développer dans ces milieux phéniqués et comment il est possible de les séparer et de les distinguer (p. 723).

Il est important de noter que, dans le bouillon phéniqué, le *Bacille typhique* n'a pas sa forme normale ; il a ses articles très courts, donnant

(1) Rodet, *Soc. de Biol.*, 1889, n° 26.

(2) Vincent, Sur un procédé d'isolement du Bacille typhique dans l'eau (*Soc. de Biol.*, 1er février 1890).

(3) Brochard, Contribution à l'étude des procédés d'isolement du Bacille typhique. Thèse de Bordeaux, 1899.

même l'aspect de Diplocoques, et est presque immobile. Aussitôt reporté dans du bouillon ordinaire, il reprend son aspect habituel.

C'est là un procédé commode et pratique, qui toutefois a le défaut de ne porter que sur une petite quantité, quelques centimètres cubes, de l'eau à examiner.

Procédé de Péré. — Péré (1) conseille aussi les bouillons phéniqués, mais sa manière d'opérer permet d'employer des quantités beaucoup plus considérables d'eau. Voici sa méthode : Dans un ballon d'un litre, stérilisé, on introduit 100 centimètres cubes de bouillon stérilisé, 50 centimètres cubes d'une solution de peptone pure à 10 p. 100 neutralisée et stérilisée, puis 600 à 700 centimètres cubes de l'eau à analyser. On ajoute alors 20 centimètres cubes, exactement mesurés, d'une solution d'acide phénique pur à 5 p. 100 et on complète à un litre avec l'eau en expérience. Le liquide contient par litre 1 gramme d'acide phénique et 830 centimètres cubes de l'eau à analyser.

On le répartit en dix vases stérilisés, fermés avec un tampon d'ouate que l'on porte à la température moyenne de 34°. Il ne faut pas dépasser 36°, on risquerait de tout tuer. Dans une eau renfermant du *Bacille typhique* ou du *Colibacille*, un trouble se produit d'autant plus vite que la proportion de ces microbes est plus forte. On peut déjà observer le trouble dès la douzième heure, plus généralement entre la quinzième et la vingtième heure, seulement vers la trentième si la pollution est réduite à des traces.

Dès que le trouble est apparent, on ensemence de cette première culture dans du bouillon normal qui peut déjà donner une culture pure, et dans quelques tubes à essai contenant une dizaine de centimètres cubes d'un mélange stérilisé renfermant, par litre, 1 gramme d'acide phénique, 5 grammes de peptone, 100 centimètres cubes de bouillon ordinaire et de l'eau en quantité suffisante pour compléter le litre. On peut faire deux ou trois passages successifs dans ce liquide phéniqué pour éliminer le plus possible d'autres espèces. Le dernier passage donne, après quelques heures d'étuve, une culture pure de *Bacille d'Eberth*, une culture pure de *Colibacille*, ou un mélange des deux espèces, comme on peut le vérifier par culture sur plaques de gélatine.

L'emploi de ce procédé a permis à l'auteur de retrouver des traces de *Colibacille* et de *Bacille typhique* ajoutés à de l'eau non stérilisée et d'isoler le *Bacille typhique* de certaines eaux d'alimentation d'Alger.

Il est possible de simplifier ce procédé en opérant sur des quantités moindres d'eau; les résultats obtenus sont très satisfaisants. A 100 centimètres cubes de l'eau à examiner, on ajoute une vingtaine de centimètres cubes de bouillon ordinaire peptonisé et 2 centimètres cubes de solution phéniquée à 5 p. 100. On met à l'étuve à 37°, cette dernière température convient bien. Dès que le trouble se produit, on réensemence dans des tubes de bouillon, contenant 10 centimètres cubes de milieu, et 5 gouttes de la solution phéniquée, comme dans le procédé de Vincent; on fait quelques ensemencements successifs comme pour ce dernier procédé.

(1) Péré, Contribution à l'étude des eaux d'Alger (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1891, V, p. 79).

Procédé de Parietti. — Parietti (1) emploie une solution acide d'acide phénique, contenant 5 grammes d'acide phénique, 4 grammes d'acide chlorhydrique et 100 grammes d'eau distillée. Il ajoute à des tubes à essai contenant 10 centimètres cubes de bouillon, 3, 6 et 9 gouttes de la solution phéniquée.

Ces tubes sont ensuite ensemencés avec des doses croissantes (1, 2..., 10 gouttes) de l'eau à examiner; puis portés à l'étuve à 37°. Le *Bacille typhique* et le *Colibacille*, quand ils existent, troublent l'eau en vingt-quatre heures. On peut faire plusieurs passages sur le même milieu et isoler sur plaques.

Procédé de G. Pouchet (2). — On prépare des ballons de 275 centimètres cubes contenant 100 grammes de bouillon, stérilisés, puis additionnés de 5 centimètres cubes d'eau phéniquée à 5 p. 100. On y verse 150 centimètres cubes de l'eau à examiner et on porte à l'étuve à 42°. Si l'eau contient du *Bacille d'Eberth* ou du *Colibacille*, il se produit un trouble en vingt-quatre ou quarante-huit heures. En cas de trouble, on fait une série de passages de quarante-huit en quarante-huit heures dans des tubes contenant, pour 10 centimètres cubes, 6 gouttes de solution phéniquée à 5 p. 100 et maintenus à 42°. Après trois passages, on ensemence dans du bouillon ordinaire, à 36°, et on prend de la semence pour faire les cultures de contrôle.

On pratique sur un cobaye une injection intrapéritonéale de $0^{cc},3$ pour 100 grammes d'animal d'une culture âgée de huit jours. L'animal est mis en observation; s'il succombe, on fait des cultures avec le sang du cœur, le foie et la rate. La méthode d'Elsner (p. 727) permet de séparer le *Bacille typhique* du *Colibacille*.

En résumé, la marche à conseiller pour les recherches courantes est l'emploi du procédé primitif de Vincent, en multipliant les séries d'ensemencement et les doses d'eau ensemencées, ou le procédé de Pouchet qui n'en est qu'une variante. La méthode de Péré, plus précise, est à réserver pour les cas difficiles ou de plus d'importance.

Les deux microbes cités, *Bacille d'Eberth* et *Colibacille*, ne sont toutefois pas les seuls à pouvoir se développer dans les milieux phéniqués employés; un certain nombre d'autres y croissent; il est alors important de pouvoir les différencier. La chose est possible, parfois par le seul examen de l'aspect de la culture, par l'étude microscopique, ou par les caractères des cultures sur les milieux habituels.

Le *Bacillus mesentericus vulgatus* forme rapidement à la surface un voile épais, plissé, au-dessous duquel le liquide s'éclaircit vite. Il ne résiste pas à un deuxième passage sur bouillon phéniqué, fait six à sept heures après l'ensemencement, quand il est en mélange, parce qu'il demande plus de temps pour pulluler.

Le *Bacille rouge de Globig* se trouve aussi fréquemment dans les cultures en milieu phéniqué; il forme aussi un voile compact et le liquide s'éclaircit.

On rencontre fréquemment deux *Streptocoques*, l'un troublant uni-

(1) Parietti, Metodo di ricerca del Bacille del tifo nelle aque potabili (*Rivista d'igiene*, 1890).

(2) G. Pouchet et Edmond Bonjean, Contribution à l'analyse des eaux potables (*Ann. d'hygiène*, 3e série, t. XXXVII, février 1897, p. 150).

formément le liquide, l'autre se cultivant en flocons assez denses dans le liquide clair. Il est possible que ce soient là deux formes du *Streptocoque pyogène* (Voy. p. 354). L'aspect microscopique les différencie de suite.

On distingue tout aussi facilement quelques Microcoques qui peuvent se développer dans ces conditions. Il faut, toutefois, se rappeler que dans les bouillons phéniqués le *Bacille typhique* affecte la forme d'éléments très courts, presque de coccus ; dans le doute, il faut donc ne pratiquer l'examen microscopique que sur une culture au bouillon ordinaire.

J'ai également obtenu des cultures de *Cladothrix*, de *Leptothrix*, de *Levures* que l'étude microscopique fait rapidement reconnaître. Wittlin (1) donne aussi comme pouvant végéter dans ces bouillons phéniqués, les *Bacillus violaceus*, *Bacillus ochraceus*, *Bacillus fluorescens liquefaciens* (?), *Bacillus subtilis*, *Micrococcus pyogenes aureus*, *Bacillus pyocyaneus*, *Bacillus anthracis* et quelques autres espèces mal déterminées, qu'il est facile de distinguer du *Bacille typhique* et du *Colibacille.*

Procédé d'Elsner. — La méthode d'Elsner a été imaginée en vue de distinguer le *Bacille d'Eberth* et le *Colibacille.* La composition spéciale du milieu ne permet guère aux autres espèces d'y végéter. Cependant, pas mal d'espèces liquéfiantes y poussent encore ; il est préférable de les éliminer d'abord par les cultures en milieux phéniqués. Les caractères qui permettent de séparer ces deux microbes à l'aide de cette méthode seront indiqués plus loin (p. 727). L'emploi de la méthode a permis à Remlinger et Schneider d'isoler facilement le *Bacille typhique* de l'eau.

Recherche du Bacille typhique dans le sol.

On peut employer les mêmes procédés que pour le rechercher dans l'eau, en leur apportant de légères modifications en rapport avec la différence de nature du produit. De petites quantités de terre, prélevée aseptiquement, sont fortement agitées dans des tubes de bouillon, de manière à répartir le mieux possible dans le liquide. Avec le liquide ainsi préparé, on ensemence de la gélatine qui sert à confectionner des plaques, ou on ensemence des milieux phéniqués préparés comme il a été dit pour l'eau.

Diagnose du Bacille typhique et des espèces similaires.

Un certain nombre d'espèces bactériennes présentent plusieurs des caractères du *Bacille typhique.* Si l'on s'en tenait à la constatation de ces caractères communs, qui peuvent être des aspects de cultures ou des ressemblances morphologiques, il est certain qu'il pourrait y avoir souvent confusion et qu'on affirmerait fréquemment à tort la présence du *Bacille d'Eberth.* Il n'en est plus de même heureusement si on se

(1) WITTLIN, Des Bactéries susceptibles de se développer lorsqu'on emploie la méthode de Parietti pour l'analyse bactériologique de l'eau (*Ann. de micr.*, VIII, 1896, p. 89).

livre à un examen minutieux et attentif, si l'on recherche les différentes particularités qui peuvent servir pour établir une distinction spécifique bien assurée; on arrive alors, à l'aide d'une série de caractères, à éliminer facilement la plupart des espèces pouvant prêter à confusion et à limiter le problème à la diagnose d'un petit nombre de types.

L'aspect seul des colonies en culture sur plaques, nous l'avons déjà vu, est loin de suffire pour établir un diagnostic certain. D'autres espèces, qu'on rencontre souvent dans les différents milieux, offrent des caractères bien voisins ou identiques. Ce sont ces nombreuses espèces qu'on a classées sous les noms de *Bactéries pseudo-typhiques* (1), *éberthiformes*, *similtyphiques*. On a beaucoup trop abusé de ces distinctions, basées, trop souvent, sur des caractères de peu de valeur, ce qui a conduit à compliquer énormément, en apparence principalement, la question du diagnostic du *Bacille d'Eberth*, particulièrement dans les recherches bactériologiques de l'eau. Il n'est pas admissible de comprendre comme pseudo-typhiques, sous le seul prétexte d'apparences similaires des colonies en cultures sur plaques, des espèces qui sont nettement des Microcoques ou des Streptocoques, d'autres qui liquéfient la gélatine, d'autres qui donnent sur pomme de terre des cultures épaisses et fortement colorées, qui ne présentent souvent rien d'autre de commun avec le *Bacille d'Eberth*.

En recherchant les principaux caractères du *Bacille typhique*, le problème se réduit d'ordinaire à la différenciation, délicate et parfois difficile, il est vrai, à établir entre cette espèce et le *Colibacille*.

Il est nécessaire avant tout d'avoir bien présents à l'esprit les caractères du *Bacille typhique* qui peuvent servir à la solution du problème. L'ordre suivant peut être conseillé pour les recherches :

1° *Aspect des cultures sur plaques*. — Il est important à connaître ; mais nous savons qu'on ne doit lui reconnaître qu'une valeur relative ;

2° *Forme et grandeur des éléments*. — Même remarque que pour le caractère précédent ;

3° *Motilité*. — Elle est bien marquée ; c'est un bon caractère (Voy. p. 679) ;

4° *Cils vibratiles*. — Bon caractère ; les cils, assez longs et résistants, sont répartis tout autour des bâtonnets (Voy. p. 679) ;

5° *Décoloration par la méthode de Gram*. — Toujours à rechercher ;

6° *Culture sur pomme de terre*. — A rechercher avec les restrictions exposées page 683 ;

7° *Culture sur gélatine*. — Ne liquéfie pas ;

8° *Culture dans les milieux lactosés*. — Pas de dégagement de bulles gazeuses dans le bouillon lactosé à 2 p. 100 et additionné de craie ;

9° *Culture dans le lait stérilisé*. — Pas de changement, même après un long temps ;

10° *Pas de production d'indol* dans les bouillons peptonisés, même après un long temps ;

11° *Production de la réaction d'agglutination* avec le sérum d'animaux vaccinés ou de typhiques (p. 736).

(1) Cassedebat, Le Bacille d'Eberth-Gaffky et les Bacilles pseudo-typhiques dans les eaux de rivière (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, p. 625).

Les caractères qui viennent d'être cités permettent de distinguer très aisément le *Bacille d'Eberth* de la plupart des espèces similaires. La différenciation du *Colibacille* est beaucoup plus délicate ; quelques particularités seulement peuvent servir de point de repère assez sûr. Pour ce motif et en raison du grand intérêt qu'on a, souvent, à établir le diagnostic de ces deux espèces, il est nécessaire d'étudier la question avec détails.

Différenciation du Bacille typhique et du Colibacille.

Cette question a fait l'objet d'un très grand nombre de travaux ; bien des méthodes ont été préconisées. Aussi n'est-il pas possible ici de tout passer en revue ; un récent travail de Gautié (1) donne tous les détails désirables. Du reste, la plupart de ces méthodes ne donnent des renseignements positifs et ne sont, par conséquent, utiles, qu'au point de vue de la constatation du *Colibacille*. La seule méthode qui puisse permettre d'isoler actuellement les deux microbes existant en mélange et de s'assurer de leur présence est la méthode des cultures sur plaques avec étude ultérieure des divers caractères. Le *Colibacille* présente, en effet, ceci d'assez particulier, d'avoir les caractères de différenciation positifs ; le *Bacille d'Eberth* les a négatifs. De telle sorte que dans un mélange de deux espèces, ou dans un produit où se trouve le *Colibacille* seul, il devient très difficile de saisir un caractère différentiel qui puisse renseigner sur la présence ou l'absence du *Bacille typhique*. L'isolement en cultures sur plaques peut seul conduire au résultat voulu. Et même, nous avons vu que certains expérimentateurs concluent à l'impossibilité d'isoler le *Bacille typhique* en présence du *Colibacille* ; les résultats obtenus par beaucoup d'autres montrent tout au moins que la chose n'est pas impossible, bien que difficile assurément. Il faut, dans ce cas, pour la confection des plaques, pousser assez loin la dilution pour que les colonies soient suffisamment espacées et puissent bien se développer et être isolées. Les colonies du *Colibacille* sont toujours plus abondantes, plus développées, d'ordinaire moins transparentes ; pour avoir plus de chance de trouver le *Bacille typhique*, il faudra donc choisir les colonies les moins avancées, les plus transparentes. Il faudra surtout ne pas craindre d'ensemencer un grand nombre des colonies développées ; parmi beaucoup de colonies, on aura alors peut-être la chance d'en trouver une appartenant au *Bacille typhique*.

Les caractères morphologiques ne permettent pas à eux seuls de différencier facilement les deux espèces. L'aspect et les dimensions des éléments, les variations suivant les milieux, sont à peu près identiques. Toutes deux se décolorent semblablement par la méthode de Gram. La motilité du *Colibacille* serait moindre que celle du *Bacille typhique* ; les mouvements du premier sont plus restreints, plus obtus, moins vifs ; ce sont là des caractères assez difficiles à apprécier justement et d'ailleurs pouvant varier. Les cils du *Colibacille* paraissent être moins nombreux, de 4 à 8 au lieu de 8, 12 et plus, plus fragiles et moins faciles à colorer.

(1) Gautié, Contribution à l'étude sur la différenciation et la recherche du Bacille typhique et du Colibacille. Thèse de Toulouse, 1899.

La culture sur pomme de terre du *Bacille typhique* peut être très peu apparente ; elle est d'habitude moins abondante et moins colorée que celle du *Colibacille* ; nous avons vu cependant que ce n'est pas un caractère absolu (p. 684).

Méthode d'Elsner. — Pour parvenir à différençier le *Bacille typhique* et le *Colibacille*, Elsner (1) a essayé l'action d'un très grand nombre de substances ajoutées à des milieux de cultures variées. Il s'est arrêté à une gélatine au suc de pommes de terre additionnée d'iodure de potassium, qui lui a paru présenter des avantages réels. La préparation de cette *gélatine d'Elsner* a été indiquée page 187. On ensemence comme pour les cultures sur plaques ordinaires et on répartit sur plaques ou, mieux, dans des boîtes de Petri. Très peu d'espèces peuvent pousser sur un tel milieu. Le *Bacille typhique* et le *Colibacille* y végètent bien. Il est possible de les différencier aisément à l'aspect des colonies. Les colonies du *Colibacille* poussent plus vite ; après vingt-quatre heures à 20°, elles ont leur aspect habituel ; à un faible grossissement, elles présentent une teinte brunâtre assez prononcée et sont nettement granuleuses. Les colonies du *Bacille typhique* sont plus lentes à se développer ; après quarante-huit heures, ce sont encore de petits points, notablement moins grosses que les précédentes ; elles sont bien moins granuleuses, transparentes, semblables à des gouttelettes d'eau et à peu près incolores (fig. 261).

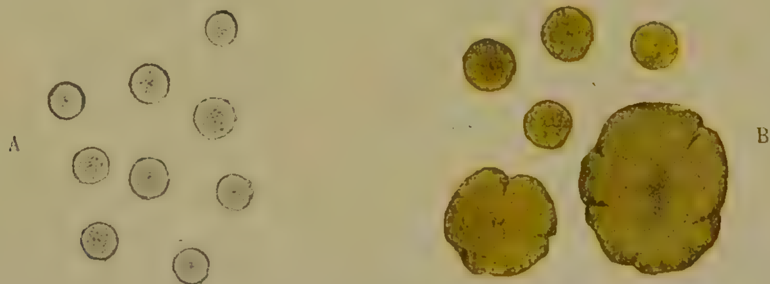


Fig. 261. — Colonies de *Bacille typhique* (A) et de *Colibacille* (B) sur milieu d'Elsner modifié par Grimbert.

Il devient possible à l'aide de ce procédé d'isoler le *Bacille typhique* de milieux comme les eaux, les matières fécales, la terre, qui contiennent d'ordinaire de nombreux autres microbes, et surtout le *Colibacille* dont le développement surabondant et les réactions spéciales masquent le plus souvent la première espèce.

D'après Grimbert (2), la réaction du milieu d'Elsner est due à la gélatine. Il serait possible de simplifier la méthode en n'employant que de la gélatine à laquelle on laisse un certain degré d'acidité, l'acidité équivalant à 1 gramme d'acide sulfurique par litre, ce qui correspond à l'emploi de 5 centimètres cubes d'eau de chaux pour neutraliser 10 centimètres cubes de gélatine. Il modifie la technique d'Elsner de la façon suivante :

500 grammes de pommes de terre râpées sont mis à macérer pendant trois ou quatre heures, ou plus, dans un litre d'eau. Le liquide est

(1) Elsner, Untersuchungen über electives Wachstum der Bacterium coli-Arten und des Typhusbacillus und dessen diagnostische Verwertbarkheit (*Zeitschr. für Hygiene*, XXI, 1895).

(2) Grimbert, Sur la préparation du milieu d'Elsner (*Soc. de Biol.*, 4 juillet 1896).

décanté et filtré, chauffé à l'autoclave, pendant dix minutes, pour coaguler les matières albuminoïdes, puis filtré à nouveau. On ajoute 15 p. 100 de gélatine que l'on dissout au bain-marie ; on clarifie au blanc d'œuf.

On prend 10 centimètres cubes du milieu que l'on verse dans 50 centimètres cubes d'eau distillée chauffée et l'on ajoute cinq à six gouttes de solution alcoolique de phénolphtaléine ; on verse l'eau de chaux au moyen d'une burette graduée, jusqu'à ce qu'on obtienne une teinte rose persistante. S'il a fallu employer plus de 5 centimètres cubes d'eau de chaux pour neutraliser les 10 centimètres cubes du milieu, on ajoute à celui-ci quelques centimètres cubes de solution normale de soude et on recommence le titrage. On recommence ainsi jusqu'à ce qu'on arrive à ne plus employer que 5 centimètres cubes d'eau de chaux pour la neutralisation.

Grimbert (1) propose l'emploi d'un milieu d'Elsner artificiel, chimiquement défini, qui donnerait les mêmes résultats que les formules précédentes (p. 188). On titre son acidité comme il vient d'être dit. Ce milieu permet d'obtenir un produit toujours identique, ce qui n'arrive pas avec la formule d'Elsner, à cause des grands changements de composition des pommes de terre suivant l'âge, la variété, les conditions de culture.

Il faut reconnaître que l'emploi de cette méthode d'Elsner, simple ou modifiée, a donné des résultats très irréguliers entre les mains des observateurs. Certains disent en avoir retiré profit (2), d'autres n'avoir pas eu plus de facilités pour arriver à différencier le *Bacille typhique* et le *Colibacille* (3). Dans un mélange où le *Colibacille* est en proportion un tant soit peu grande, les cultures ne montrent souvent que des colonies lui appartenant, comme l'ont bien montré les expériences de Retout (4) et de Gautié (5). De plus, la différenciation des colonies par le seul aspect n'est pas possible, parce que certaines races de *Colibacilles* peuvent avoir l'aspect des colonies typhiques et se développer aussi tardivement que ces dernières. Pour bien réussir, il est nécessaire de mettre en culture un grand nombre de colonies de chaque type et rechercher sur chacune des cultures obtenues les caractères de différenciation indiqués ; l'emploi du milieu d'Elsner ne sert qu'à faciliter le choix.

Méthode de Piorkowski. — Piorkowski (6) conseille l'emploi de milieux additionnés d'urine, avec lesquels il a constaté une abondante végétation pour le *Colibacille* et un développement plus lent pour le *Bacille*

(1) Grimbert, Sur la préparation du milieu d'Elsner (*Soc. de Biol.*, 4 juillet 1896). — *Id.*, Sur un milieu d'Elsner artificiel (*Ibid.*, 25 juillet 1896).

(2) Chantemesse, Diagnostic précoce de la fièvre typhoïde par l'examen bactériologique des garde-robes (*Soc. de Biol.*, 29 février 1896). — Remlinger et Schneider, Contribution à l'étude du Bacille typhique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 55).

(3) P. Courmont, Recherche du Bacille d'Eberth dans les selles par le procédé d'Elsner (*Soc. de Biol.*, 27 juin 1896).

(4) Retout, Valeur du milieu d'Elsner pour la recherche et la différenciation du B. typhique et du B. du côlon, thèse de Paris, 1898.

(5) Gautié, Contribution à l'étude sur la différenciation et la recherche du B. typhique et du Colibacille. Thèse de Toulouse, 1899.

(6) Piorkowski, Ueber die Differenzierung vom Bacterium coli commune und Bacillus typhi abdominalis auf Harnnährsubstraten (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 29 juin 1896, et *Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 686).

typhique. De plus, sur les milieux à la gélatine, l'aspect des colonies en cultures sur plaques est bien différent et permet une différenciation facile des deux microbes. Ces milieux s'obtiennent en ajoutant à l'urine ordinaire des peptones, de la gélatine ou de la gélose, aux proportions habituelles, sans modifier la réaction.

Pour les cultures sur plaques de gélatine, les plus importantes pour la différenciation, il recommande la technique suivante (1) : On prend de l'urine normale, de densité 1,020, recueillie depuis deux jours, qui a, par conséquent, une réaction alcaline; on y ajoute 0,50 p. 100 de peptone et 3,30 p. 100 de gélatine. On chauffe une heure à 100°, à la vapeur ou au bain-marie ; on filtre et on répartit dans des tubes qu'on stérilise à 100° pendant un quart d'heure. Le lendemain, on stérilise encore pendant dix minutes.

On ensemence le produit à étudier, mélange de *Colibacille* et de *Bacille typhique*, comme pour les cultures sur plaques ordinaires, et on met à l'étuve à 22°. Après vingt heures, on trouve développées des colonies des deux espèces présentant des aspects bien différents (fig. 262). Les colonies du *Colibacille* (A) sont nettement arrondies, opa-

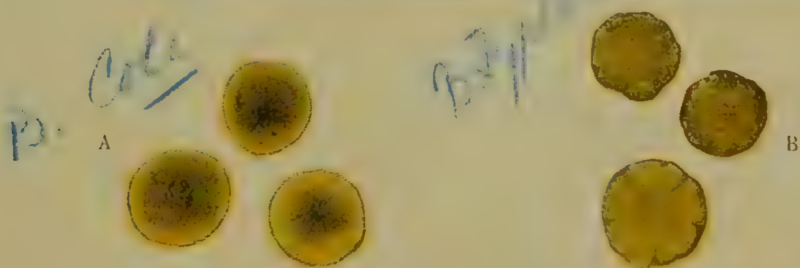


Fig. 262. — Colonies de *Bacille typhique* et de *Colibacille* sur gélatine de Piorkowski.

ques, jaunâtres. Celles du *Bacille typhique* (B) sont opalescentes, nuageuses, ressemblant un peu à des colonies de Moisissures, formées de filaments radiés sinueux, divergeant d'une partie centrale un peu plus épaisse. Dans ce cas, la différenciation est facile. Malheureusement, d'après Gautié (2), ce caractère n'est pas très constant; la production de ces formes est probablement en rapport avec la composition, si variable, de l'urine. Il est nécessaire de mieux préciser les conditions.

Méthode de Thoinot et G. Brouardel. — Thoinot et G. Brouardel (3) ont proposé l'addition d'acide arsénieux aux bouillons de culture.

D'après eux, le *Bacille typhique* ne se développe pas du tout ou très peu quand on l'ensemence dans du bouillon peptonisé, contenant 1 centigramme d'acide arsénieux par litre, et jamais dans un bouillon contenant 2 centigrammes par litre, alors que tous les *Colibacilles* normaux poussent non seulement très bien dans de tels bouillons, mais se développent encore avec des proportions de 1^{gr},50 à 2 grammes d'acide arsénieux par litre. Il est cependant certains échantillons de *Colibacille* (paracolibacilles) qui se comporteraient comme le *Bacille typhique*.

(1) Piorkowski, Ein einfaches Verfahren zur Sicherstellung der Typhusdiagnose (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1899, n° 7, p. 145).

(2) Gautié, *Op. cit.*, p. 248 et 249.

(3) Thoinot et G. Brouardel, Sur un caractère biologique différentiel entre le B. d'Eberth et le Colibacille (*Soc. de méd. des hôp.*, 18 mars 1898).

Cultures sur milieux colorés. — Les cultures sur milieux colorés ne donnent pas non plus de résultats très précis. Sur la *gélose fuchsinée* de Gasser (p. 685), les deux microbes décolorent le milieu ; la culture du *Bacille typhique* serait seulement plus abondante que celle du *Colibacille*. Sur *gélose lactosée additionnée de tournesol bleu*, comme l'indique Würtz (p. 686), le *Bacille typhique* se développe sans modifier la coloration bleue ; le *Colibacille*, au contraire, fait rapidement virer au rouge la nuance bleue, d'abord autour de la culture, puis dans tout le tube. Toutefois, d'après Sanarelli, des *Colibacilles* provenant de l'intestin se développeraient sur ce milieu sans le faire virer en rouge, et Silvestrini (1) a vu un *Bacille typhique*, vrai d'après lui, retiré de la rate d'un typhique, rougir cette gélose bleue.

Méthode de Ramond. — Ramond (2) conseille l'emploi de *rubine acide*. A 5 à 6 centimètres cubes de gélose lactosée à 4 p. 100 fondue vers 70°-80°, on ajoute de la solution de rubine jusqu'à nuance rouge-cerise, puis deux gouttes de solution aqueuse saturée de carbonate de soude qui décolore très vite le milieu. Il se fait, sous l'influence de l'alcali, une précipitation de sels terreux qui oblige à filtrer. On stérilise à 105° pendant cinq minutes; le milieu doit être incolore. Le *Bacille d'Eberth*, ensemencé sur ce milieu, s'y cultive sans produire de modification; le *Colibacille*, au contraire, fait apparaître une coloration rouge intense. En ensemençant en strie une très petite quantité d'un mélange des deux espèces, de manière à obtenir des colonies isolées, celles du *Colibacille* se teignent en rosé, celles du *Bacille d'Eberth* restent incolores et transparentes. La gélatine colorée par le même procédé peut servir à faire des plaques où les colonies se différencient de la même manière (fig. 263). Il faut cependant se souvenir que certains types de *Colibacille* ne donnent pas la nuance rosée spéciale.

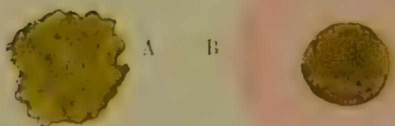


Fig. 263. — Colonies de *Bacille typhique* (A) et de *Colibacille* (B) sur gélatine de Ramond (d'après Gautié).

Méthode de Robin. — Robin (3) préconise comme très bonne méthode de différenciation l'emploi de milieux colorés au *bleu de méthylène*, surtout bouillon et gélose.

Il emploie un bouillon ainsi composé :

Peptone Collas	5 grammes.
Phosphate de soude	0gr,05
Chlorure de sodium	0gr,50
Eau	250 centimètres cubes.

On porte le liquide à l'ébullition, puis on ajoute 1 centimètre cube d'une solution aqueuse à 1 p. 100 de *bleu soluble pur* et, goutte à goutte, d'une solution de potasse normale décime jusqu'à la décoloration complète. On cesse alors de chauffer et on ajoute 20 gram-

(1) Silvestrini, *Rivista gen. italiana di Clinica medica*, 1892.

(2) Ramond, Nouveau milieu pouvant servir à différencier le B. d'Eberth du *Bacterium coli* (*Soc. de Biol.*, 1896, n° 28).

(3) Robin, Sur un nouveau milieu coloré pour la différenciation du Colibacille et du B. d'Eberth (*Soc. de Biol.*, 26 janvier 1897).

mes de lactose. On filtre et distribue dans des tubes par 10 centimètres cubes.

La gélose est obtenue avec la formule suivante :

Gélose	8 grammes.
Peptone Collas	5 —
Phosphate de soude	0gr,10
Bleu soluble à 1 p. 100	1 centimètre cube.
Eau	250 centimètres cubes.
Potasse normale décime	35 centimètres cubes environ.

On chauffe à 115° pour dissoudre la gélose. On doit avoir une solution à peine teintée de gris ; sinon il faut ajouter encore un peu de liqueur de potasse en maintenant à l'ébullition, jusqu'à obtention du résultat. On ajoute alors 10 grammes de lactose. On distribue dans des tubes qu'on stérilise à 105° et refroidit inclinés.

Le *Bacille typhique* se développe bien sur ces milieux, en les laissant incolores comme avant. Avec le *Colibacille*, le bouillon se recolore en bleu avant quinze heures ; sur la gélose, après douze à quinze heures, la coloration bleue apparaît le long de la strie d'ensemencement, puis envahit progressivement la masse entière.

Méthode de Kashida. — Kashida (1) a cherché à utiliser, pour la différenciation, la propriété que possède le *Colibacille* de faire fermenter le lactose et de produire de l'ammoniaque aux dépens de l'urée, la première de ces modifications se produisant plus tôt que la seconde. Le *Bacille typhique*, au contraire, ne détermine ni l'une ni l'autre de ces réactions.

Le milieu se prépare de la façon suivante : On ajoute 1,5 p. 100 de gélose à du bouillon bien neutre et on fait dissoudre à la chaleur. On examine à nouveau la réaction et on neutralise s'il est besoin. On clarifie au blanc d'œuf et on filtre. Après filtration, on ajoute 2 p. 100 de lactose, 1 p. 100 d'urée et 30 p. 100 de teinture de tournesol bleu. On répartit dans des tubes que l'on stérilise comme d'habitude.

En ensemençant du *Colibacille*, le milieu vire au rouge en seize à dix-huit heures, par suite de formation d'acide lactique ; puis, au bout de vingt-quatre heures, la formation d'ammoniaque aux dépens de l'urée le fait revenir au bleu.

Avec le *Bacille typhique*, on n'observe aucune modification du milieu.

Malheureusement, la fermentation ammoniacale de l'urée ne paraît pas être un caractère très constant du *Colibacille*, et la production d'acide lactique est aussi sujette à des variations, comme il vient d'être dit (p. 730).

Milieux lactosés a la phénolphtaléine. — Une trace de phénolphtaléine en solution alcaline donne une belle coloration rose ; en traitant la solution par un acide, la coloration rose disparaît ; on peut la faire reparaître en ajoutant un alcali.

Dans un milieu alcalin, en présence de lactose, le *Colibacille* fera disparaître la coloration rose de la phénolphtaléine qui persistera au contraire avec le *Bacille typhique*.

(1) Kashida, Differenzierung der Typhusbacillen vom Bacterium coli commune durch die Ammoniakreaction (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 802).

Plusieurs expérimentateurs conseillent l'emploi de ce réactif.

Abba (1) donne la formule suivante :

Eau	1000 grammes.
Lactose	20 —
Peptone	10 —
Chlorure de sodium	5 —
Solution alcoolique de phénolphtaléine à 1 p. 100	0gr,5
Carbonate de soude, solution saturée à froid.	2 à 3 centimètres cubes.

Graziani (2) donne cette autre :

Bouillon peptone	200 grammes.
Lessive de soude	0gr,10 à 0gr,15
Lactose	40 grammes.
Phénolphtaléine	0gr,5

Mérieux et Carré (3) indiquent celle-ci :

Bouillon peptone	100 grammes.
Lactose	2 —
Solution alcoolique de phénolphtaléine et carbonate de soude	Quelques gouttes.

Ajouter cette dernière solution goutte à goutte jusqu'à ce que le bouillon ait pris une teinte rose violet très franche.

Graziani donne la manière de préparer un milieu solide à la gélose. On fait dissoudre 15 centigrammes de phénolphtaléine dans 15 centimètres cubes de lessive de soude et 18 grammes de lactose dans 25 centimètres cubes d'eau distillée ; on mélange les deux solutions, filtre et stérilise.

Pour l'usage, on ajoute quatre ou cinq gouttes de la solution à un tube de gélose fondue.

La réaction s'obtient très nettement avec les *Colibacilles* qui font bien fermenter le lactose, très peu ou pas avec les autres.

Milieux lactosés colorés a la fluorescéine. — La fluorescéine, dans un milieu à réaction alcaline, donne une coloration jaune pâle avec une belle fluorescence verte. En traitant par un acide, la fluorescence disparaît et la coloration jaune fonce.

Graziani conseille l'emploi du milieu suivant :

Bouillon peptone	200 grammes.
Lessive de soude	0gr,10 à 0gr,15
Sucre de lait	40 grammes.
Fluorescéine	0gr,10

On fait bouillir et filtre. Le liquide rouge-brique avec fluorescence verte est réparti dans des tubes que l'on stérilise à 110 degrés.

(1) Abba, Ueber ein Verfahren den Bacillus coli communis schnell und sicher aus dem Wasser zu isolieren (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 13).

(2) Graziani, De l'emploi des phtaléines (phtaléines du phénol et de la résorcine) pour reconnaître le Colibacille, le B. d'Eberth et celui du choléra (*Arch. de méd. expér.*, IX, 1897, p. 98).

(3) Mérieux et Carré, Contribution à la recherche du B. coli et du B. d'Eberth dans les eaux potables (*Lyon médical*, 13 novembre 1898).

Gautié (1) donne la formule suivante :

Bouillon peptone..............................	100 grammes.
Lactose..................	4
Fluorescéine....................................	0gr,005
Solution de carbonate de soude.................	Quelques gouttes.

D'après lui, les milieux solides donneraient de moins bons résultats que les milieux liquides.

La réaction ne se produit pas bien avec les *Colibacilles* qui n'agissent pas énergiquement sur le lactose.

Rothberger (2) a fait des recherches avec des milieux à la gélose colorés avec un très grand nombre de couleurs d'aniline ou autres, comme le carmin d'indigo ou l'extrait d'orseille.

D'après lui, dans les cultures faites avec le *Colibacille* et le *Bacille typhique*, on observe, dans un espace de temps variant de deux à vingt-quatre heures, avec un certain nombre de colorants, des différences assez marquées pour s'en servir comme moyens de diagnose. Avec le *neutralrot* ou *rouge de toluylène*, le milieu n'est absolument pas modifié par le *Bacille typhique*, tandis que le *Colibacille* atténue notablement la coloration et détermine une forte fluorescence. Avec la *safranine*, le *Bacille typhique* ne change rien, le *Colibacille* décolore en vingt-quatre heures. Le *vert de méthyle* est complètement décoloré par le *Colibacille*; le *Bacille typhique* fait passer la partie inférieure du milieu au bleu verdâtre, tandis que la partie supérieure devient brun rouge. Le *vert malachite* est décoloré par le *Colibacille* et à peine un peu atténué par le *Bacille typhique*. Le *vert d'iode* devient brun rouge puis brun sale avec le *Colibacille* et ne change pas avec le *Bacille typhique*. L'*induline* et la *nigrosine* passent à une nuance vert sale avec le *Colibacille* et ne se modifient pas avec le *Bacille typhique*. Le *carmin d'indigo* est décoloré en vingt-quatre heures par le *Colibacille* : il prend une nuance verte avec le *Bacille typhique*.

Toutefois, ces recherches n'ont pas porté, comme il l'aurait fallu, sur de nombreux échantillons de *Colibacille*.

A cause de la très grande variabilité, à ce point de vue particulier, de ces deux espèces microbiennes, on ne doit avoir qu'une confiance limitée dans l'emploi différentiel des différents milieux colorés.

Cultures sur milieux divers. — Roger recommande la culture sur artichaut comme moyen de diagnostic (p. 193). Le *Bacille typhique* y pousse sans donner de culture apparente et sans produire de coloration. Avec le *Colibacille*, le milieu se colore en vert après vingt-quatre heures ; il se développe une culture assez épaisse, jaunâtre.

G. Roux (3) a observé une réaction analogue sur des gélatines additionnées de décoctions d'artichaut ou de cardon ; il attribue la pigmentation à l'action d'une oxydase sécrétée par le *Colibacille*.

(1) Gautié, *loc. cit.*, p. 728.

(2) Rothberger, Differenzialdiagnostische Untersuchungen mit gefärbten Nährböden (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 513 ; XXV, 1899, p. 15 et 69).

(3) G. Roux, Sur une oxydase productrice de pigment sécrétée par le Colibacille (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 13 mars 1899, p. 693).

Mankowski (1) préconise l'emploi d'une gélose peptonisée préparée avec une décoction de champignon. Le *Bacille typhique* s'y développe très lentement et donne une petite bande transparente humide, tandis que le *Colibacille* se développe vite et donne une pellicule blanche solide et sèche.

La *réaction de l'indol* peut donner de bonnes indications. On n'obtient pas la réaction de l'indol avec les cultures en bouillon peptonisé du *Bacille typhique*, même très anciennes. Au contraire, les cultures de *Colibacille* donnent presque toujours une réaction très nette dans les conditions qui seront exposées plus loin. D'après G. Roux, cependant, le *Bacille typhique* pourrait quelquefois donner une réaction minime ; d'un autre côté, plusieurs auteurs ont vu le *Colibacille* authentique ne pas la montrer.

La culture en *bouillon lactosé à 2 p. 100* additionné de carbonate de chaux (p. 684) mérite une très grande confiance. Le *Bacille typhique* se développe dans ce milieu sans produire de bulles gazeuses ; le *Colibacille*, au contraire, déterminant la fermentation lactique du sucre de lait, donne rapidement de fines bulles gazeuses.

Dans le *lait*, le *Bacille d'Eberth* se cultive sans modifier l'aspect du milieu, même après longtemps. Le *Colibacille*, au contraire, produit très vite la coagulation. Il en est de même dans le *lacto-sérum artificiel*.

Les cultures de *Bacille typhique* ne *développent jamais d'odeur*; celles du *Colibacille* ont toujours une mauvaise odeur, le plus souvent même fétide.

Enfin, la *réaction d'agglutination* de Widal, avec le sérum typhique (p. 736), s'observe toujours avec le *Bacille d'Eberth* et jamais avec le *Colibacille*.

En résumé, trois caractères permettent surtout de différencier sûrement et dans tous les cas le *Bacille typhique* et le *Colibacille* ; ce sont :

1° La culture en bouillon lactosé additionné de craie ;
2° La culture dans le lait ;
3° La réaction d'agglutination des Bacilles par le sérum antityphique.

Différenciation du Bacille typhique et d'autres espèces similaires.

Dans les différents procédés que l'on met en œuvre pour rechercher le *Bacille typhique* dans des produits divers, on est exposé à rencontrer des microbes qui présentent avec lui certaines ressemblances. Il est d'ordinaire beaucoup plus facile d'établir la distinction qu'avec le *Colibacille*. L'étude de la morphologie et les cultures conduisent vite au résultat. Nous avons vu précédemment (p. 723) quelles étaient les espèces qui pouvaient se développer dans les bouillons phéniqués ; à

(1) Mankowski, Ein neues Nährsubstrat zur Isolierung von Typhusbacillen und des Bacterium coli commune (*Centralbl. für Bakt.*, XXVII, 1900, p. 23).

part le *Colibacille*, il n'en est guère qui puissent en imposer pour le *Bacille typhique*. L'aspect de la culture, l'examen microscopique lèveront rapidement les doutes. Un Streptocoque de l'eau donne sur pomme de terre une culture rappelant celle du *Bacille typhique* : la présence de chaînettes suffit pour le reconnaître.

Dans les cultures sur plaques, on peut rencontrer des colonies semblables d'aspect aux colonies du *Bacille typhique*, que les particularités de la morphologie et du développement en cultures montrent vite appartenir à des espèces différentes. Il peut être intéressant de connaître au moins les principales :

Nous avons déjà parlé du *Colibacille*, qui peut donner des colonies peu différentes ou même identiques à celles du *Bacille typhique*.

Une Bactérie violette, que j'ai cru devoir rapporter au *Bacillus janthinus* de Zopf, ne liquéfiant que très tardivement la gélatine, donne des colonies absolument identiques en cultures sur plaques à celles du *Bacille typhique* (1). On les reconnaît, mais seulement parfois après un temps assez long, à la teinte violette des cultures sur gélatine. Sur pomme de terre, elle forme une mince culture humide et brillante, qui brunit plus tard.

Les colonies du *Bacillus fluorescens putridus* au début ont aussi un aspect semblable et ne liquéfient pas la gélatine. Mais elles s'étendent d'ordinaire beaucoup plus en peu de jours, peuvent même atteindre 1 centimètre de diamètre, et de plus présentent une auréole verdâtre, diffusant dans la gelée ambiante. Les cultures sur gélatine, en tubes, sont plus épaisses et dégagent une odeur d'urine putréfiée. La culture sur pomme de terre est mince, brillante, visqueuse ; elle prend une coloration rosée, et il se forme dans sa masse des bulles de gaz.

Il existe dans l'eau, très communément, une espèce de *Micrococcus* qui peut prêter à confusion à cause de la très grande similitude de ses colonies. La forme des cellules est un caractère bien suffisamment distinctif à l'examen microscopique. La culture sur pomme de terre est aussi plus apparente et colorée en gris jaune.

D'autres espèces liquéfiant rapidement la gélatine ne gardent que très peu de temps l'aspect particulier, éberthiforme, des colonies en cultures sur plaques. Après deux ou trois jours, le centre se déprime et les bords se fondent pour ainsi dire dans la gelée environnante qui se liquéfie en peu de temps.

Le *Bacillus lactis aerogenes* donne des colonies assez semblables à celles du *Colibacille*, un peu plus opaques cependant d'ordinaire. Les cultures ne liquéfient pas la gélatine, mais y produisent des gaz qui déterminent des cassures de la gelée, comme dans la gélose également. De plus, il coagule rapidement le lait, donne des bulles de gaz abondantes dans le bouillon lactosé additionné de craie et forme une culture épaisse sur pomme de terre.

Weichselbaum (2) a décrit sous le nom de *Bacillus aqualilis sulcatus 1, 2, 3, 4* et *5*, des Bactéries qu'il a isolées d'eaux de Vienne et qui donnent, en cultures sur plaques, des colonies semblables à celles du *Bacille d'Eberth*.

(1) Voy. Macé, *Atlas de microbiologie*, pl. XI, fig. 5.

(2) Weichselbaum, Bakteriologische Untersuchungen des Wassers der Wiener Hochquellleitung (*Das Oesterreichische Sanitätswesen*, 1889, nos 14-23).

Le Bacille n° 1 a les éléments en bâtonnets des mêmes dimensions que le Bacille typhique, très mobiles : il donne sur pomme de terre un développement abondant, qui présente une nuance verdâtre à un moment donné.

Son Bacille n° 2, à éléments mobiles, à peu près de la dimension de courts Bacilles typhiques, donne sur pomme de terre une culture d'un gris bleuté, cireuse.

Son Bacille n° 3 a des éléments très courts, ressemblant presque à des coccus ; il donne sur pomme de terre une culture jaune, se nuançant plus tard de bleu verdâtre, et exhalant une odeur de propylamine.

Son Bacille n° 4 a des éléments souvent longs et peu mobiles ; il ne se développe que très difficilement, même à l'étuve, et pas du tout sur pomme de terre.

Son Bacille n° 5 donne sur pomme de terre une culture jaune pâle avec liséré grisâtre.

Les *Bacilles pseudo-typhiques* de Cassedebat (1) n'ont aucune relation réelle avec le *Bacille typhique* : les simples cultures sur milieux usuels suffisent à les distinguer.

Les caractères énoncés suffisent également à faire distinguer les espèces similaires signalées aussi dans l'eau par Germano et Maurea (2), Houston (3).

Toutes ces espèces se rapprochent en général plus du *Colibacille* que du *Bacille typhique*. Par tous ses caractères, le *Colibacille* apparaît nettement comme un type peu différencié, pouvant présenter des variations importantes un peu dans tous les sens, alors que le *Bacille typhique* paraît avoir de son côté des caractères tout à fait spécifiés.

Séro-diagnostic de la fièvre typhoïde.

En étudiant, *in vitro*, l'action du sérum sanguin d'individus atteints de fièvre typhoïde sur les Bacilles de cultures pures, Widal (4) a constaté l'action immobilisante et agglutinante de ce sérum sur les bâtonnets isolés et mobiles. De plus, l'expérience lui démontrait que le sérum d'individus sains ou atteints d'affections autres n'avait aucun effet similaire. Enfin, ce sérum de typhiques ne produisait pas ou très peu de modifications dans les cultures de *Colibacille*. Cette réaction, dite *réaction d'agglutination* ou *réaction agglutinante*, peut rendre de réels services au point de vue du diagnostic ; réaction d'infection, elle permet de faire le diagnostic pendant l'infection.

Pour rechercher cette réaction d'agglutination, il est possible d'employer plusieurs procédés qui sont basés sur les mêmes principes, l'agglutination des Bacilles d'une culture par la substance agglutinante

(1) Cassedebat, Le B. d'Eberth-Gaffky et les B. pseudo-typhiques dans les eaux de rivière (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, p. 625).

(2) Germano et Maurea, Verglischende Untersuchungen über den Typhusbacillus und ähnliche Bakterien (*Ziegler's Beiträge*, XII, 1893, p. 494).

(3) Houston, Note on four microorganisms isolated from the mud of the river Thames which ressemble by Bacillus typhosus (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 518).

(4) Widal, Séro-diagnostic de la fièvre typhoïde (*Soc. méd. des hôp.*, 26 juillet 1896). — Widal et Sicard, Étude sur le séro-diagnostic et sur la réaction agglutinante chez les typhiques (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 353).

produite dans l'organisme en état d'infection (p. 110 et 111). Ces procédés sont dits *lents* ou *rapides* suivant le temps nécessaire pour constater la réaction.

Procédé lent. — Un premier procédé consiste à faire agir sur une culture jeune de *Bacille typhique* une quantité suffisante de sérum sanguin de typhique et de voir les modifications qui peuvent se produire. Le sérum doit alors naturellement être pur de germes pour n'introduire dans la culture aucun élément étranger. On puise aseptiquement, dans la veine du pli du coude, une petite quantité de sang avec une seringue stérilisée. Après formation du caillot, on décante le sérum et on en ajoute quelques gouttes à un tube de bouillon, dans la proportion de 1 partie de sérum pour 10 à 15 parties de bouillon; avec 4 centimètres cubes de bouillon, par exemple, on met 8 gouttes de sérum. On ensemence avec quelques gouttes de culture de *Bacille typhique* et on porte à l'étuve à 37°. On prépare en même temps un tube témoin en ensemençant dans les mêmes conditions du bouillon seul.

Pendant les premières heures, la culture paraît mal se faire, le sérum ajouté exerce une action retardatrice manifeste. Le tube témoin montre nettement la différence. Au bout d'un temps variant entre quatre et sept heures, on distingue la formation de quelques grumeaux dans le tube additionné de sérum ; après douze à vingt-quatre heures, ce tube a pris un aspect caractéristique. Le bouillon est resté presque tout à fait clair; les microbes se sont amassés au fond du tube sous forme de petits flocons blanchâtres; par agitation, on n'arrive pas à dissocier complètement ces flocons, mais à former seulement une fine poussière qui se sédimente par le repos. Les flocons et le fin précipité sont dus à de petits amas de bâtonnets agglutinés entre eux. Le tube témoin, au contraire, s'est rapidement troublé dans toute son étendue; son trouble est nettement persistant; par agitation, on voit le liquide prendre l'aspect moiré assez particulier à ces cultures.

L'aspect n'est cependant pas toujours aussi caractéristique. Le bouillon peut se troubler dans toute son étendue, mais alors le trouble n'est pas homogène, il ne présente pas ces ondulations moirées; il est dû à un précipité en fine poussière dont chaque grain est un amas de bâtonnets agglutinés comme le montre le microscope. Cet aspect peut du reste varier ; c'est pour cela qu'il est bon d'examiner le liquide d'heure en heure pour suivre ses modifications. Les plus beaux grumeaux se forment surtout au début ; plus tard, le liquide peut même se troubler normalement au-dessus du précipité, comme si les premiers microbes avaient absorbé toute la substance agglutinante.

On peut aussi ajouter le sérum typhique dans une culture déjà développée, âgée de un ou deux jours. Si le sérum est fortement agglutinant, la culture devient déjà grumeleuse après quelques heures et finit par se clarifier complètement, après dépôt des flocons. Si le sérum est moins actif, la culture n'arrive pas à se clarifier, mais est granuleuse dans toute sa hauteur; l'examen microscopique montre que les grains sont dus à l'agglomération de bâtonnets.

Procédé extemporané. — Il est possible de rechercher plus facilement et surtout plus rapidement la réaction agglutinante de la manière suivante : On mélange dans un verre de montre ou un petit verre conique,

à 10 gouttes d'une culture de vingt-quatre heures de *Bacille typhique*, une goutte de sérum provenant d'un typhique; on fait de suite une préparation microscopique du mélange, et on l'examine telle quelle. Quand le sérum est agglutinant, on voit que les Bacilles perdent leur mobilité et s'agglutinent en petits amas bien reconnaissables. Ces amas sont nombreux et confluents, très évidents, ou plus discrets quoique bien nets (fig. 264). En abandonnant la préparation et l'examinant à

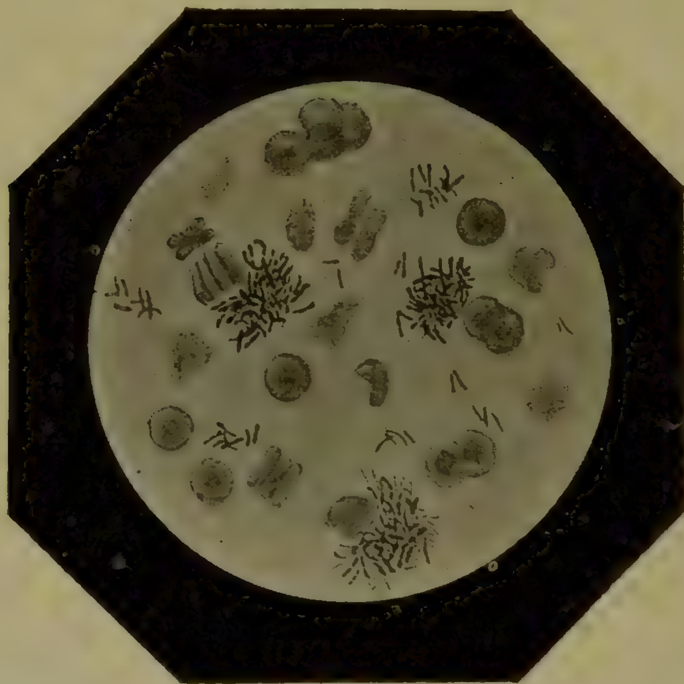


Fig. 264. — Agglutination d'une culture de *Bacille typhique* par le sang d'un homme atteint de fièvre typhoïde. 1000/1.

nouveau, après une demi-heure ou une heure, le phénomène est beaucoup plus apparent. L'agglutination est aidée par une légère dessiccation à la périphérie de la préparation. Il est à recommander tout spécialement d'examiner chaque fois au microscope de la même façon une goutte de la culture dont on se sert, avant d'opérer, pour se rendre bien compte de la mobilité des Bacilles et de l'absence de grumeaux.

Le sang peut être facilement retiré par piqûre de la pulpe du doigt ou à l'aide d'une ventouse scarifiée; un demi-centimètre cube suffit à donner en une heure ou deux quelques gouttes de sérum. La réaction agglutinante peut du reste s'obtenir aussi nettement avec le sang total; pour faire la préparation microscopique, il est préférable d'attendre un peu que la plus grande partie des globules soient déposés. Pour supprimer l'ennui que peuvent causer les globules, Guillemin (1) conseille de laisser l'agglutination se faire sur la lame pendant deux heures, dessécher, fixer par l'alcool-éther, traiter par l'acide acétique à 1/10e pendant une ou deux secondes pour dissoudre les globules, puis laver et colorer à la fuchsine phéniquée.

Le sang ou le sérum conservent longtemps après dessiccation ce

(1) Guillemin, Contribution au procédé de Widal pour le diagnostic de la fièvre typhoïde par la séro-réaction (*Soc. de Biol.*, 1er juillet 1899).

pouvoir agglutinant; Widal l'a retrouvé très net sur du sang desséché depuis six mois. Le sang peut être desséché sur des substrats divers, éponge, linge, papier, par exemple, et envoyé au loin. Au moment du besoin, on en laisse macérer un morceau dans quelques gouttes de bouillon ou d'eau stérilisée jusqu'à dissolution de la tache; une goutte du mélange est versée dans 10 gouttes de culture. Les amas se produisent rapidement avec le sérum desséché, plus lentement avec le sang.

Réaction avec les Bacilles morts. — Les Bacilles tués par la chaleur ou une substance antiseptique peuvent rester agglutinables.

Une température de 70° à 100° fait perdre aux Bacilles, en grande partie au moins, la propriété de se laisser agglutiner; un sérum très actif peut encore agir sur eux, mais la réaction est beaucoup moins belle. En tuant les cultures par une exposition d'une demi-heure à trois quarts d'heure à une température de 57° à 60°, les microbes conservent toute leur sensibilité à l'action du sérum; les amas formés sont aussi nets qu'avec les Bacilles vivants.

Certains antiseptiques donnent aussi, à ce point de vue, de très bons résultats. Widal et Sicard (1) recommandent surtout le formol. En ajoutant une goutte de formol du commerce à 150 gouttes d'une culture de *Bacille typhique* de un à deux jours, tous les Bacilles sont tués, mais restent comme fixés dans l'état où ils se trouvaient, gardant pendant des semaines presque intégralement leur sensibilité à la réaction agglutinante. Van de Velde (2) dit aussi avoir obtenu de bons résultats avec la chaleur ou divers antiseptiques. C'est là une méthode qui peut rendre de très bons services en dispensant de l'obligation d'avoir toujours sous la main une culture jeune pour faire un séro-diagnostic.

Réaction avec différentes humeurs de l'économie. — Le sang est l'humeur qui paraît posséder au maximum le pouvoir d'agglutiner. D'autres humeurs montrent aussi, à des degrés divers, cette même particularité qui leur vient certainement du sang par diffusion.

Une goutte d'urine de typhique mélangée à 10 gouttes de culture donne assez souvent des amas; mais le phénomène est inconstant. La filtration sur bougie fait perdre àl' urine la propriété agglutinante.

La sérosité des vésicatoires donne, chez les typhiques, des résultats aussi nets que le sérum.

Achard et Bensaude (3) ont observé que le lait d'une nourrice atteinte de fièvre typhoïde possédait manifestement le pouvoir d'agglutination, en l'ajoutant à une culture pure de vingt-quatre heures aux mêmes proportions que le sérum, une goutte pour dix. Avec le lait des femmes saines, d'après eux, on voit bien des Bacilles s'accoler un peu aux globules du lait ou aux autres éléments, mais la différence est très nette avec les amas d'agglutination du premier cas. La filtration sur bougie fait perdre au lait la propriété agglutinante. Un séjour prolongé à 60°

(1) Widal et Sicard, La réaction agglutinante sur les Bacilles morts (*Soc. de Biol.*, 30 janvier 1897).

(2) Van de Velde, Influence de la chaleur, des sels, des métaux lourds et d'autres antiseptiques sur les cultures de B. typhique employées dans le séro-diagnostic de la fièvre typhoïde (*Acad. de méd. de Belgique*, 27 mars 1897, et *Sem. méd.*, 1897, n° 15, p. 114).

(3) Achard et Bensaude, Action agglutinante du lait de femme atteinte de fièvre typhoïde sur le B. d'Eberth (*Soc. méd. des hôp.*, 31 juillet 1896).

ne la modifie pas; à 100°, elle diminue considérablement; à 120°, elle a totalement disparu en quinze minutes. Le sérum du nourrisson n'a montré aucun indice de réaction.

Charrier et Appert (1) n'ont observé aucune réaction avec le sang d'un fœtus, provenant d'une femme typhique, dont le foie et la rate ne leur ont pas donné de *Bacille d'Eberth*. Le liquide de macération de fragments de placenta leur a donné une réaction très peu marquée et tardive. Il semble donc que le placenta puisse retenir les substances qui agissent ici.

Dans d'autres cas, le placenta peut laisser la diffusion se faire (2).

Étienne (3) a montré que la réaction peut manquer ou s'obtenir avec le sang du fœtus, suivant que celui-ci reste étranger à la fièvre typhoïde de la mère ou est réellement infecté par elle; dans ce dernier cas, il peut même réagir plus fortement que la mère contre l'intoxication, comme le montre son pouvoir d'agglutination plus élevé que celui de la mère.

Mosné et Daunic (4) ont aussi constaté la réaction agglutinante chez un nouveau-né dont la mère avait été atteinte de fièvre typhoïde au sixième mois de la grossesse.

Widal et Sicard ont du reste constaté le pouvoir agglutinant, au moment de la naissance, dans le sang du cœur des petits d'une lapine inoculée depuis six jours. Le liquide amniotique s'est montré nettement agglutinant dans un cas d'Étienne.

Ménétrier (5) a observé l'absence de l'agglutination avec la sérosité pleurale d'un typhique, qui toutefois contenait, à l'état de pureté, du *Bacille typhique*; d'après les recherches de P. Courmont (6), le microbe avait peut-être enlevé au liquide le pouvoir agglutinant par le fait de sa seule végétation. Cependant Widal et Sicard ont pu constater le pouvoir agglutinant dans le pus d'un âne immunisé; ce pus contenait du *Bacille typhique* en abondance; la réaction était encore très nette après quinze mois de conservation dans un flacon.

Réaction agglutinante avec certaines substances chimiques. — Malvoz (7) a constaté qu'un bon nombre de substances coagulantes ou des matières colorantes pouvaient déterminer aussi, plus ou moins fortement, l'agglutination du *Bacille typhique*. Le formol, solution du commerce, à parties égales, le sublimé à doses très faibles, l'alcool fort,

(1) Charrier et Appert, Absence de propriété agglutinante chez le fœtus de typhique (*Soc. de Biol.*, 7 novembre 1896).

(2) Achard, Sur le passage de la propriété agglutinante à travers le placenta (*Soc. de Biol.*, 6 mars 1897).

(3) Étienne, La fièvre typhoïde du fœtus (*Gaz. hebd.*, 1896). — *Id.*, Absence de la réaction agglutinante par le sang d'un fœtus issu d'une mère morte de fièvre typhoïde hypertoxique (*Presse méd.*, 1896). — *Id.*, Formation autonome de substance agglutinante par l'organisme fœtal au cours d'une fièvre typhoïde maternelle (*Soc. de Biol.*, 4 novembre 1899).

(4) Mosné et Daunic, Séro-réaction chez l'enfant d'une femme atteinte de fièvre typhoïde pendant la gestation (*Soc. de Biol.*, 27 février 1897).

(5) Ménétrier, Fièvre typhoïde compliquée de pleurésie droite, réaction agglutinative du sérum sanguin; pas de réaction agglutinative du sérum de l'épanchement (*Soc. méd. des hôp.*, 27 novembre 1896).

(6) P. Courmont, Disparition *in vitro* du pouvoir agglutinant des humeurs de typhiques lorsqu'on y cultive le B. d'Eberth (*Soc. de Biol.*, 2 avril 1897).

(7) Malvoz, Recherches sur l'agglutination du *Bacillus typhosus* par les substances chimiques (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 582).

l'eau oxygénée à parties égales, les solutions à 1 p. 1000 de safranine ou de vésuvine à parties égales, déterminent, sous le microscope, l'immobilisation des Bacilles et leur réunion en amas, tout comme le sérum spécifique. Les acides minéraux, l'acide phénique, l'acide lactique, le chloroforme, n'agglutinent pas. Pour Beco (1), cependant, le pouvoir agglutinant de certaines de ces substances, le formol particulièrement, ne s'exercerait pas d'une façon constante sur des microbes bien authentiques, et de plus se produirait tout aussi bien sur d'autres Bactéries des selles ou des eaux, des *Colibacilles*, des *Bacilles fluorescents*, des *Proteus*; il ne serait alors pas possible de s'en servir comme caractère de différenciation, comme on l'avait proposé.

Mensuration du pouvoir agglutinant. — Le sang des typhiques a un pouvoir agglutinant variable, tantôt très faible, tantôt très énergique. En faisant varier la proportion de sang ou de sérum que l'on ajoute à la culture employée, il devient possible de mesurer sa puissance agglutinante en déterminant le taux de dilution minimum nécessaire pour la formation d'amas bien évidents.

Il faut opérer sur des quantités déterminées de cultures et de sérum, en tout cas toujours parfaitement comparables pour que les deux termes de la proportion soient établis avec la rigueur désirable. On se sert d'éprouvettes ou de pipettes graduées exactement lorsque les quantités à mesurer sont de quelque importance. Lorsqu'on procède par gouttes, les deux pipettes à employer pour une même opération devront donner des gouttes tout à fait identiques. On y arrive en prenant des tubes de verre d'une vingtaine de centimètres de longueur qu'on étire à leur partie médiane; ces tubes sont fermés aux deux extrémités par un tampon d'ouate et chauffés par stérilisation; au moment de s'en servir, on casse le milieu de l'effilure et on a deux pipettes symétriques, donnant des gouttes très égales.

Pour des dilutions peu élevées, 1/10e, 1/20e, 1/30e, 1/50e, on peut se servir de gouttes et ajouter alors une goutte de sérum pour 10, 20, 30, 50 gouttes de bouillon. Pour des dilutions plus élevées, 1/100e, 1/500e, 1/1000e, 1/2000e, il est préférable de diluer d'avance le sérum dans du bouillon ou de l'eau stérilisés, à 1 pour 5, 1 pour 10 ou plus, de façon à simplifier l'opération.

Ainsi, en ajoutant une goutte de dilution de sang ou de sérum à 1 pour 10, à 5, 10, 20, 50 gouttes de culture disposées dans de petits tubes, on arrive à avoir des mélanges aux taux respectifs de 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 500.

Il faut toujours commencer les recherches par l'examen de la dilution au dixième. Au-dessous, la constatation de l'agglutination ne serait pas décisive. Le sérum humain normal peut, en effet, comme l'a montré Stern (2), agglutiner légèrement les cultures de *Bacille typhique* à ces taux peu élevés. D'un autre côté, le sérum typhique agglutine souvent nettement le *Colibacille* à des taux inférieurs à 1 : 10.

(1) Beco, Note sur la valeur de l'agglutination par le sérum antityphique expérimental comme moyen de diagnostic entre le B. d'Eberth et les races coliformes (*Centralbl. für Bakt.*, XXVI, 1899, p. 136).

(2) Stern, Diagnostische Blutuntersuchungen beim Abdominal-Typhus (*Centralbl. für inn. Med.*, 1896, n° 49). — *Id.*, Ueber Fehlerquellen der Serodiagnostik (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1897, n°s 11-12).

On fait ensuite l'examen de dilution à 1 : 20, 1 : 50, 1 : 100 et au-dessus si l'on veut. On poursuit jusqu'à ce que l'on soit arrivé à une dilution qui ne donne pas d'amas d'agglutination sur une préparation faite depuis deux heures. La dernière dilution où ces amas sont bien nets donnera la proportion cherchée, qui sera la mensuration assez exacte du pouvoir agglutinant cherché.

Widal et Sicard conseillent, comme base d'appréciation, le tableau suivant :

Pouvoir agglutinant		très faible :	Inférieur	à 1/100e.
»	»	faible :	de 1/100e	à 1/200e.
»	»	moyen :	de 1/200e	à 1/500e.
»	»	intense :	de 1/500e	à 1/2000e.
»	»	très intense :	Supérieur	à 1/2000e.

Dans la pratique courante, on peut se contenter de deux évaluations, l'une avec une dilution à 1 : 10, l'autre avec une dilution à 1 : 50. Toute agglutination qui se fait à 1 pour 50 doit faire porter un diagnostic positif.

Valeur de l'agglutination. — Au point de vue du microbe, de nombreux expérimentateurs n'ont pu constater que de minimes différences dans la sensibilité à l'agglutination sur des échantillons de provenances extrêmement variées.

Au point de vue du diagnostic de la fièvre typhoïde, les nombreuses statistiques qui ont été faites un peu partout dans ces dernières années ont donné des résultats extrêmement satisfaisants. En France, Gasser sur 112 cas de fièvre typhoïde, P. Courmont (1) sur 257 cas, Bensaude (2) sur 61 cas, n'ont pas vu la réaction manquer une seule fois ; Widal (3) sur 177 cas ne l'a vu faire défaut qu'une seule fois. En Allemagne, les statistiques de Stern, de C. Fraenkel (4), de Haedke (5), de Pick (6) sont également concluantes. En Amérique, la statistique de Johnston et Mac Taggart (7), portant sur 500 cas, ne montre que quelques exceptions ; celle de Cabot (8), sur 1 826 sujets supposés atteints de fièvre typhoïde, a confirmé le diagnostic dans 1 744 cas, soit sur 95,2 p. 100 des cas. L'absence de la réaction dans des cas suspects tient sans doute à ce qu'il ne s'agissait pas de fièvre typhoïde.

D'un autre côté, pour affirmer que la réaction manque dans un cas de fièvre typhoïde, il faut que l'examen du sang ait été renouvelé un assez grand nombre de fois et surtout à des périodes diverses ; une

(1) P. Courmont, Deux cent quarante cas de séro-diagnostic chez les typhiques (*Soc. de Biol.*, avril 1897). — *Id.*, Séro-pronostic de la fièvre typhoïde, 1897.

(2) Bensaude, Le phénomène de l'agglutination des microbes et ses applications à la pathologie. Thèse de Paris, 1897.

(3) Widal, Séro-diagnostic de la fièvre typhoïde. Congrès de Moscou, 1897.

(4) C. Fraenkel, Ueber den Werth der Widal'schen Probe zur Erkennung des Typhus abdominalis (*Deutsche med. Wochenschr.*, nos 3 et 16, 1897).

(5) Haedke, Die Diagnose des Abdominaltyphus und Widal's serumdiagnostisches Verfahren (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1897, no 2).

(6) Pick, Ueber die Widal'sche serumdiagnose des Typhusabdominalis (*Wiener klin. Wochenschr.*, 1897, no 4).

(7) Johnston et Mac Taggart, On the difference between serum and blood solutions, the condition of the test culture and the signifiance of *Bacterium coli* infection in relation to typhoid diagnosis (*Montreal med. Journ.*, XXV, 1897, p. 709).

(8) Cabot, Clinical report on sero-diagnosis (*Journ. of American med. Assoc.*, 2 juin 1897).

réaction manquant un jour peut se montrer le lendemain. Elle ne s'observe pas souvent tout au début de la fièvre typhoïde. On peut la constater dès le deuxième ou le troisième jour; c'est tout à fait exceptionnel. On l'observe plus souvent à partir du cinquième jour, mais on ne peut guère compter sur elle que vers le septième jour. Widal ne l'a constatée une fois que le vingt-deuxième jour; d'autres ne l'ont rencontrée qu'à la fin de la maladie, au début de la convalescence ou au cours d'une rechute. Aussi, en raison de tels faits, doit-on s'en rapporter à la règle suivante, posée par Widal au Congrès de Nancy (1) : Un résultat négatif obtenu avec le sérum d'un malade suspect fournit une probabilité contre le diagnostic de la fièvre typhoïde, mais ce n'est qu'une probabilité, surtout si la recherche a été faite dans les premiers jours de la maladie; l'examen doit être alors répété les jours suivants; la probabilité est d'autant plus grande que l'examen est pratiqué à une période plus avancée de la maladie.

La réaction diminue et peut disparaître dès les premières semaines de la convalescence. Elle peut cependant persister après la guérison : Widal l'a constatée, à plusieurs reprises, chez des personnes guéries de fièvre typhoïde depuis trois et sept ans. D'ordinaire, elle manque ou est très atténuée chez les typhiques guéris depuis plus d'un an; souvent alors, pour la constater, il faut diminuer la proportion de culture, prendre une goutte de sérum pour cinq de culture. En cas de résultat négatif, il est bon également de recommencer l'examen pendant plusieurs jours.

Un sérum qui jouit de propriétés agglutinantes très marquées n'exerce aucune action bactéricide sur les Bacilles qui ont subi ses effets; les amas formés peuvent très bien végéter, lorsqu'on les met dans les conditions voulues.

On a vu que cette propriété agglutinante paraît être due à une substance sécrétée par l'organisme; c'est un véritable procédé de défense qu'on observe pendant la période d'infection ou à la suite d'immunité.

La réaction fait défaut dans les autres maladies. Les sérums d'individus atteints d'érysipèle, de péritonite, de pneumonie, de grippe, d'orchite, de tuberculose, etc., sont sans action sur les cultures du Bacille d'Eberth.

Cabot a constaté une fois une réaction positive chez un nègre atteint d'anémie pernicieuse, sur 30 malades atteints d'affections autres que la fièvre typhoïde; Widal ne l'a pas rencontrée une seule fois avec 350 sérums d'individus non typhiques essayés à la proportion de 1 pour 10.

Ferrand et Thoari (2) ont constaté la réaction agglutinante dans un cas de septicémie grave avec symptômes typhiques, alors qu'à l'autopsie les recherches n'ont pu faire trouver que du Streptocoque; Jez (3) dit aussi l'avoir obtenue très manifeste dans un cas de méningite tuberculeuse.

Les sérums antipneumococcique, antidiphtérique, antistreptococcique, sont sans effet sur les cultures de *Bacille typhique*.

Certains sérums normaux paraissent toutefois produire une agglutination légère à 1 p. 10, après une heure ou plus de contact; mais la

(1) Widal, Congrès de médecine de Nancy, août 1896.
(2) Ferrand et Thoari, *Soc. méd. des hôp.*, 22 janvier 1897.
(3) Jez, *Wiener med. Wochenschr.*, 16 janvier 1897.

réaction est insuffisante pour qu'on puisse la considérer comme caractéristique. Il faut du reste se souvenir que bien des gens sont atteints de typhoïdettes assez légères pour passer inaperçues et qui suffiront pour donner au sang cette propriété d'agglutiner pendant un temps souvent assez long.

Elle est, par contre, constante dans la fièvre typhoïde. Elle s'observe on peut dire toujours, avec une intensité plus ou moins grande cependant, dans les cas graves et dans les cas bénins. Cependant, on connaît un certain nombre de cas de fièvre typhoïde bien caractérisée cliniquement et à l'autopsie, où elle paraît avoir fait défaut. Il est toutefois difficile de dire si elle manquait réellement ou seulement faisait momentanément défaut. On comprend dès lors l'importance que peut prendre en clinique cette méthode de séro-diagnostic, surtout pour les cas douteux, les cas légers, où les autres signes font souvent défaut. Sa facilité d'exécution la met, d'ailleurs, à la portée du médecin.

Séro-pronostic. — Si l'on suit d'une façon régulière, jour par jour par exemple (1), la marche du pouvoir agglutinant du sang chez les malades atteints de fièvre typhoïde, on s'aperçoit que sa valeur, mesurée comme il a été dit plus haut, subit des variations bien nettes. Le pouvoir agglutinant monte peu à peu, ou parfois assez brusquement, se maintient élevé pendant un nombre de jours plus ou moins considérable, puis redescend.

La réaction d'agglutination étant une réaction de défense de l'organisme, l'évolution du pouvoir agglutinant du sang peut certainement être en un rapport certain avec l'évolution, la marche et l'intensité de l'infection elle-même.

Il devient possible, en étudiant les variations du phénomène, de chercher à en tirer des conclusions sur l'évolution de la maladie, conclusions pouvant éclairer le pronostic à établir ; c'est là le *séro-pronostic*. Les recherches de P. Courmont (2) principalement semblent bien montrer, en effet, que dans les formes simples, bénignes, de la fièvre typhoïde, la marche du pouvoir agglutinant, ou la courbe par laquelle on peut la représenter, est régulière, avec périodes ascendante et descendante bien nettes ; dans les formes graves ou compliquées, au contraire, la courbe est irrégulière, traînante, oscillante, descendante suivant les cas ; une ascension rapide de la courbe serait d'une pronostic favorable, surtout au moment où la guérison va s'accuser. La comparaison des courbes thermique et agglutinante peut donner de bons renseignements ; lorsque les deux courbes marchent en sens inverse, c'est d'un pronostic précieux, favorable si le pouvoir agglutinant s'élève, défavorable s'il s'abaisse. Toutefois, comme le fait remarquer Étienne (3), le pouvoir agglutinant ne peut en rien faire apprécier l'influence des infections secondaires, des complications provenant d'un processus local ou des accidents mécaniques.

Réaction d'agglutination comme caractère de différenciation du Bacille typhique. — La sensibilité que présente le *Bacille typhique* vis-à-vis du

(1) Pamart, Étude de la séro-réaction de Widal par l'épreuve quotidienne. Thèse de Paris, 1899.

(2) P. Courmont, Séro-pronostic de la fièvre typhoïde, 1897.

(3) Étienne, Contribution à l'étude du séro-pronostic de la fièvre typhoïde (*Revue méd. de l'Est*, 1899).

sérum d'un organisme en puissance d'infection typhoïde peut être avantageusement mise à profit comme caractère différentiel. La réaction d'agglutination peut être utilisée pour la diagnose d'un microbe que l'on cherche à identifier avec le *Bacille typhique*.

Toutefois, il faut se souvenir que cette réaction d'agglutination n'est pas une réaction réellement spécifique. Pour s'en servir comme caractère de diagnose, il faut alors toujours l'employer dans des conditions bien déterminées qui permettront, outre sa constatation bien nette, d'apprécier l'énergie de cette réaction; c'est ce dernier point qui doit avoir ici le plus de valeur.

Comme l'ont montré en particulier Stern (1) et Beco (2), beaucoup de types du *Colibacille* sont réellement agglutinables par le sérum typhique; mais entre leur puissance agglutinante et celle du *Bacille typhique* il y a toujours des différences considérables. Avec le sang de malades atteints de fièvre typhoïde, leur agglutination ne se fait le plus souvent qu'avec des doses plus élevées que 1 p. 10 et ne s'observe en tout cas jamais à la proportion de 1 p. 30, alors que presque toujours le Bacille typhique est agglutiné avec des proportions bien moindres. Avec des sérums d'animaux immunisés, beaucoup plus actifs à ce point de vue, on observe encore les mêmes différences bien nettes, avec des proportions moindres à cause de l'énergie du sérum. D'autre part, Gruber et Durham (3) ont observé l'agglutination du *Bacillus enteritidis* par le sérum typhique *concentré*; Gilbert et Fournier (4) en disent autant du *Bacille de la psittacose*; il faut encore des doses plus fortes pour déterminer l'agglutination des *Protéus* et des *Bacilles fluorescents*, comme Beco l'a constaté.

Dans ces conditions, on peut affirmer qu'on possède dans l'emploi du sérum des typhiques et surtout du sérum des animaux immunisés à l'aide du Bacille typhique un caractère de diagnose d'une extrême sensibilité et d'une grande valeur (5).

BACILLUS COLI COMMUNIS Escherisch.

(*Bacterium coli commune, Bacille d'Escherisch, Bacille du côlon, Colibacille.*)

Atlas de microbiologie, pl. XII.

Escherisch (6) a, le premier, isolé cette espèce des selles de nourrissons ou d'enfants nourris de lait. Depuis, elle a été signalée comme une espèce constante de l'intestin de l'homme ou des animaux.

D'abord considérée comme un saprophyte sans importance et un commensal inoffensif, on n'a pas tardé à être mis en éveil par sa présence

(1) Stern, Typhusserum und Colibacillen (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 673).

(2) Beco, Note sur la valeur de l'agglutination par le sérum antityphique expérimental comme moyen de diagnostic entre le B. d'Eberth et les races côliformes (*Centralbl. für Bakt.*, XXVI, 1899, p. 136).

(3) Gruber et Durham, *Munch. med. Wochenschr.*, 31 mars 1896.

(4) Gilbert et Fournier, *Bull. de l'Acad. de méd.*, 20 octobre 1896.

(5) Van de Velde, Valeur de l'agglutination dans la séro-diagnose de Widal et dans l'identification des B. éberthiformes (*Centralbl. für Bakt.*, XXXIII, 1898, p. 481 et 547).

(6) Escherisch, Die Darmbacterien des Saüglings und ihre Bezeihung zur Physiologie der Verdauung (*Fortschr. der Med.*, 1885). — *Id.*, Beiträge zur Kenntniss der Darmbacterien (*Münch. med. Wochenschr.*, 1886, p. 43).

constante, son abondance dans certaines manifestations pathologiques de l'appareil intestinal, concordant avec ses effets pathogènes expérimentaux, déjà signalés par Escherisch. Les observations s'accumulant, il a bien fallu se convaincre qu'elle jouait un rôle certain dans la pathogénie de beaucoup d'affections.

Entre temps, on signalait sa présence dans le milieu extérieur où sa dissémination est très grande. Dès 1888 (1), j'ai attiré l'attention sur sa constatation dans les eaux de boisson, et l'ai donnée comme une indication d'une contamination d'origine fécaloïde. Les nombreux faits nouveaux accumulés depuis n'ont fait que confirmer ces données et accroître de beaucoup l'importance qui doit être attribuée à cette espèce en pathologie humaine.

Nous avons vu précédemment quels sont les rapports étroits qui l'unissent au *Bacille typhique* et combien il peut être parfois difficile de se prononcer entre ces deux espèces. Nous savons que plusieurs expérimentateurs, Rodet et G. Roux (de Lyon), au premier rang, concluent même à l'identité spécifique des deux microbes (p. 678). Cependant, il est encore des caractères qui permettent de les distinguer ; ils ont été exposés et discutés en détails précédemment (p. 726) ; nous ne reviendrons plus sur ce sujet et, tout en admettant qu'il existe entre les deux microbes des ressemblances très grandes, nous continuerons jusqu'à meilleure preuve à les considérer comme deux types distincts.

Alors que le *Bacille typhique* présente une constance remarquable dans ses caractères importants, ce qui fait qu'on peut le considérer comme un type spécifique bien nettement différencié, le *Colibacille*, au contraire, montre une variabilité extrême dans toutes les propriétés que nous lui connaissons. Chacun des caractères considéré isolément peut varier dans de grandes limites, un peu en tous les sens, ou même faire entièrement défaut. Pour établir une opinion, il devient alors nécessaire de se baser plutôt sur un ensemble de caractères, sur un habitus général, que de choisir une ou plusieurs propriétés qui, dès l'abord, pourraient paraître prédominantes ou que l'on serait même tenté de regarder comme spécifiques. Le *Colibacille* semble être un centre d'où partent, dans toutes les directions, des types plus ou moins aberrants, qu'une étude isolée peut amener à considérer comme des espèces distinctes, mais qui sont facilement ramenés à leur centre d'origine par une étude comparative sérieuse.

Une bonne partie de l'histoire du *Colibacille* a été faite à propos du *Bacille typhique* (p. 678 et suiv.) ; ces deux espèces sont du reste si voisines qu'il est absolument nécessaire de ne pas les séparer dans l'étude.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les éléments sont de courts bâtonnets de longueur assez variable, mesurant de 2 à 3 μ, parfois plus, de longueur, sur 0,4 à 0,6 μ de largeur (fig. 265). Comme pour le *Bacille typhique*, la nature du milieu et l'âge des éléments influent sur les dimensions ; les éléments très jeunes sont plus courts ; les éléments âgés, surtout dans certains milieux, sont plus longs, atteignent 6 μ et

(1) Macé, L'analyse bactériologique de l'eau (*Ann. d'hygiène*, 1888).

plus. Les bâtonnets sont isolés, souvent réunis par deux ou plus rarement en petits amas. Ils peuvent présenter la forme en navette, avec vacuole centrale, comme le *Bacille typhique*.

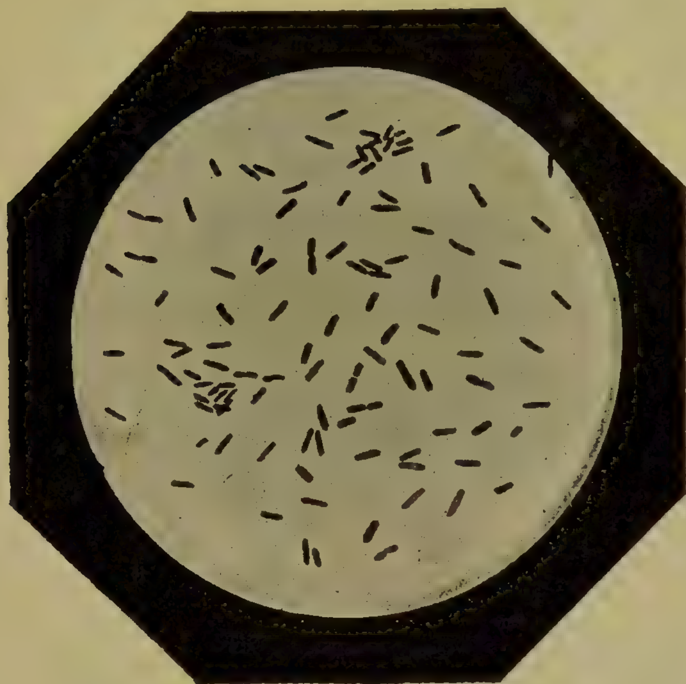


Fig. 265. — *Colibacille*, d'une jeune culture dans le bouillon, 1000/1.

Cette forme en bâtonnets, que l'on peut considérer comme normale, est toutefois sujette à des variations qu'il est important de connaître. Ces variations paraissent dépendre de conditions de milieu. Cultivé dans les milieux additionnés d'antiseptiques, surtout dans les milieux phéniqués, comme le *Bacille typhique* (p. 721), le *Colibacille* prend la forme de diplocoques. Adami, Abbott et Nicholson (1) ont obtenu la même forme en diplocoques en le cultivant dans les milieux ordinaires à 46°, ou dans les liquides ascitique ou péritonéal, dans la bile du cobaye; après inoculation au lapin, ils retrouvent, très peu de temps après l'inoculation, de ces formes en diplocoques, parfois capsulées, dans l'intérieur des leucocytes du liquide péritonéal, dans les cellules endothéliales du foie. Des cultures montrent souvent des formes filamenteuses très nettes. D'ordinaire, en reportant de tels éléments anormaux (fig. 266) dans les conditions habituelles, la forme normale réapparaît plus ou moins vite.

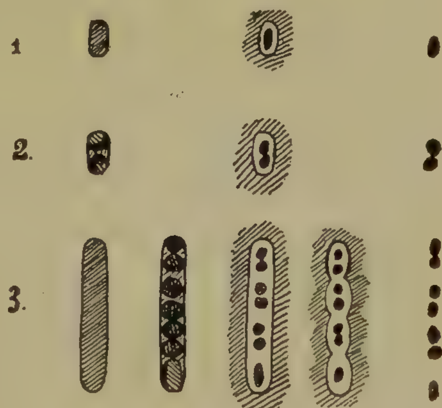


Fig. 266. — Formes variées du *Colibacille*. Transformations conduisant des formes ovoïdes aux bâtonnets (1 et 2) et aux filaments (3) (d'après Adami, Abbott et Nicholson).

(1) Adami, Abbott et Nicholson, On the diplococcoid form of the colon bacillus (*Journ. of exper. Med.*, IV, 1899, nos 3 et 4).

Les bâtonnets sont nettement mobiles. Les mouvements sont en général plus lents, moins vifs que ceux du *Bacille typhique*; ce sont le plus souvent des mouvements d'oscillation sur place, ceux de translation directe sont rares. La motilité est due à la présence de cils vibratiles que les méthodes de colorations spéciales peuvent mettre en évidence. Ces cils, au nombre de 4 à 6, exceptionnellement 8, sont disséminés sur toute la périphérie de l'élément, ou parfois en bouquets aux extrémités; ils sont moins nombreux, un peu plus courts et plus fragiles; ils ne sont jamais aussi enchevêtrés que ceux du *Bacille typhique*; beaucoup sont cassés dans les préparations. Certains types de *Colibacille* n'ont qu'une mobilité très obtuse; on en signale même de tout à fait immobiles.

Les formes en diplocoques ou en filaments, signalées plus haut, sont d'ordinaire immobiles.

La motilité manque aussi complètement dans certains types.

On trouve mention de prétendues spores qui n'ont pas plus de réalité que celles de l'espèce précédente. Piccoli (1) a décrit récemment de grosses spores ovoïdes dont il n'a pu préciser les conditions de développement.

Coloration. — Les éléments se colorent facilement aux procédés ordinaires; la fuchsine phéniquée donne de très bons résultats. Ils se *décolorent* rapidement par la méthode de Gram. D'après Schmidt (2), quand le Bacille est imprégné de graisse, dans les matières fécales des nourrissons par exemple, il pourrait résister à la décoloration par cette méthode; Jacobsthal (3), toutefois, n'a pas pu constater cette particularité.

Les cils se colorent plus difficilement que ceux du *Bacille typhique*; avec la méthode de Loeffler, il faut augmenter un peu le nombre des gouttes de soude à ajouter au mordant.

Cultures. — Les cultures s'obtiennent très facilement et sont d'ordinaire abondantes sur les milieux habituels.

L'oxygène favorise le développement du *Colibacille*; mais il végète fort bien en son absence; c'est un anaérobie facultatif.

Il est également peu exigeant au point de vue de la température; il pullule bien vers 12°, a un optimum vers 35° et végète jusqu'à 46 degrés.

Cultures sur plaques de gélatine. — Les colonies apparaissent très vite à une température d'environ 18°; au bout de vingt-quatre heures, elles sont déjà très visibles dans l'épaisseur de la gelée et peuvent déjà atteindre près d'un millimètre à la surface.

A un faible grossissement, les colonies qui se trouvent dans la gelée apparaissent comme de petits disques granuleux, d'un jaune brunâtre, plus opaques que celles du *Bacille typhique* de mêmes dimensions. Elles peuvent présenter un polymorphisme assez marqué, montrer un centre sombre, des anneaux concentriques, présenter des divi-

(1) Piccoli, Sulla sporulazione del *Bacterium coli commune* (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 307).

(2) Schmidt, *Wiener klin. Wochenschr.*, 1892, p. 643.

(3) Jacobsthal, Färbt dich *Bacterium coli commune* bei Züchtung auf fettreichen Nährböden nach der Gram'schen Methode (*Hygienische Rundschau*, 1897, p. 849).

sions en secteurs irréguliers, former des sortes de rosaces ou même avoir une apparence mûriforme; dans tous les cas, la coloration brunâtre persiste.

Celles de la surface se sont étalées en forme de petites îles à bords souvent sinueux, découpés ou d'autres fois assez nettement circulaires. Elles peuvent avoir deux aspects assez distincts : souvent opaques, luisantes, à centre plus épais, surélevé, jaunâtre, montrant un noyau sombre, restant de la colonie primitive, elles peuvent revêtir la forme reconnue comme typique pour le *Bacille d'Eberth*, présenter une transparence assez grande, avoir à la surface de nombreuses ondulations, montrer autour d'un centre légèrement jaunâtre une zone périphérique claire, hyaline, à reflets irisés, donner l'aspect d'une petite montagne de glace déjà cité à propos du précédent microbe. Leurs dimensions sont toujours notablement plus fortes que celles des colonies du *Bacille typhique* de même âge. Après six à dix jours, elles atteignent facilement 4 à 5 millimètres, alors que celles du *Bacille typhique* ne dépassent guère 3 millimètres, même après un temps plus long. L'origine du Bacille pourrait influer sur l'aspect des colonies ; le *Colibacille* des eaux donne souvent la forme transparente, celui de l'intestin le plus souvent la forme opaque. D'après Laruelle (1), en cultivant la variété opaque dans le lait ou en la faisant passer dans le péritoine de cobayes, on peut obtenir la variété transparente.

Les cultures sur plaques de *Colibacille* exhalent toujours une odeur forte, fétide, rappelant l'odeur fécaloïde; cette odeur existe également dans toutes les cultures.

La gélatine n'est *jamais liquéfiée.*

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* dans un tube de gélatine, il se forme dans le canal une traînée gris jaunâtre ou blanche, formée de petites colonies rondes ou lenticulaires accolées, et à la surface une couche blanchâtre, muqueuse, opaque ou presque transparente, à bords irréguliers, qui prend plus de dimensions qu'avec le *Bacille typhique* et peut même recouvrir la plus grande partie de la surface libre.

En *strie*, il se forme une bande laiteuse, plus ou moins transparente, un peu nacrée, à bords nets ou festonnés ; la culture est parfois assez épaisse.

Il peut, dans ces cultures, se développer des bulles de gaz ; le fait paraît cependant exceptionnel et peut être dû à la présence dans le milieu d'une petite quantité de sucre fermentescible.

Sur *gélatine à la décoction de malt*, le développement est très abondant; la culture est crémeuse, épaisse.

Cultures sur gélose. — Sur gélose et surtout sur gélose glycérinée, on obtient une culture assez abondante, blanche, crémeuse, opaque. Il s'y développe quelquefois de petites bulles de gaz, surtout à la surface du liquide qui se trouve d'ordinaire au fond du tube. La production gazeuse toutefois est loin d'avoir la même intensité qu'avec le *Bacillus lactis aerogenes*.

Cultures sur sérum. — Sur sérum coagulé, la culture est blanchâtre, assez semblable à celle obtenue sur gélose.

(1) Laruelle, Étude bactériologique sur les péritonites par perforation (*La Cellule*, V, 1889).

Cultures sur pomme de terre. — Le *Colibacille* s'y développe abondamment d'ordinaire. En vingt-quatre heures, la culture est déjà assez épaisse. Après deux jours, elle s'est élargie en formant un enduit épais, luisant, visqueux, à surface lisse ou mamelonnée, d'une coloration grisâtre ou jaunâtre, enserrant quelquefois de petites bulles de gaz. En vieillissant, elle peut passer au jaune brun. D'après Péré (1), sur les pommes de terre *nouvelles*, surtout l'espèce dite de Hollande, le *Colibacille* pourrait donner une culture incolore, peu visible, quelquefois vernissée, rappelant l'aspect donné par Gaffky comme caractéristique du *Bacille typhique* : sur pomme de terre *avortée*, la culture serait rapide et d'un brun verdâtre.

Cultures sur artichaut. — Sur les artichauts préparés comme il a été dit page 193, le *Colibacille* fait apparaître, en vingt-quatre heures, une coloration verte qui se développe d'abord sur les fleurs, puis envahit la substance charnue les jours suivants. Le liquide en surplus se colore également en vert.

G. Roux (2) attribue cette production de pigment à une oxydase que sécréterait le microbe.

Cultures dans le bouillon. — Le développement est très rapide; le trouble peut déjà être très net au bout de six à huit heures à 37°. Il se forme un dépôt floconneux au fond du vase et à la surface un voile pelliculaire, très fragile, qui peut se limiter à la partie voisine des parois. Le liquide ne s'éclaircit que lentement; il reste souvent trouble pendant des semaines. La culture exhale une forte odeur, souvent fétide, fécaloïde. Il se produit assez souvent, contre les parois, une couronne de fines bulles gazeuses.

Dans le *bouillon glucosé à 2 p. 100*, il se produit une fermentation énergique, se manifestant par un dégagement gazeux abondant.

Dans le *bouillon lactosé à 2 p. 100* additionné d'un peu de craie, le développement gazeux est encore plus marqué.

Dans le *bouillon saccharosé à 2 p. 100*, même production abondante de gaz.

Nous reviendrons plus loin sur les modifications chimiques intéressantes produites par le *Colibacille* dans ces milieux de cultures.

Cultures dans le lait. — Le développement est rapide. L'acide lactique produit par l'attaque du lactose détermine en peu de temps la coagulation de la caséine. L'attaque de la caséine, par contre, ne se fait que très lentement et en proportion minime. Le lait est transformé en une masse compacte dans laquelle se produisent des gaz; il s'en sépare un sérum transparent, acide. La coagulation peut tarder à se produire ; de vieilles cultures ne la montrent parfois qu'après une dizaine de jours.

Étienne (3) a observé un *Colibacille* qui ne coagulait pas le lait en tubes, mais y arrivait en deux jours en ballons, exposé sur une plus grande surface au contact de l'air.

(1) Péré, Contribution à la biologie du *Bacterium coli commune* et du B. typhique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 527).

(2) G. Roux, Sur une oxydase productrice de pigment sécrétée par le Colibacille (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 13 mars 1899).

(3) Étienne, Note sur une modification de la coagulation du lait par le Colibacille (*Soc. de Biol.*, 20 janvier 1894).

Cultures dans les milieux chimiquement définis. — Le *Colibacille* pousse dans presque tous les milieux minéraux, même les plus simples, comme les liquides de Naegeli.

D'après Remy et Sugg, le milieu suivant lui convient très bien.

Liquide de Remy et Sugg.

Eau distillée	100	grammes.
Glucose	20	—
Nitrate de sodium	10	—
Phosphate neutre de potassium	1	gramme.
Sulfate de magnésium	2	grammes.
Chlorure de calcium	1	gramme.

Il végète très abondamment dans les liquides renfermant de l'asparagine ou de l'urée.

Dans le *lacto-sérum artificiel*, le *Colibacille* produit un trouble rapide et d'ordinaire, en moins de douze heures, une abondante coagulation. Il est cependant des types qui paraissent ne pas agir sur le lactose et ne pas produire ici de coagulation, se comportant comme le *Bacille typhique*.

Cultures dans les milieux colorés. — Des détails complets ont été donnés précédemment (p. 730) à propos du *Bacille typhique* sur les cultures de ce microbe en milieux colorés.

Sur gélose colorée au liquide de Noeggerath ou à la fuchsine, la culture de *Colibacille* décolore le milieu et absorbe la couleur, comme le *Bacille typhique*, mais elle est moins abondante et ne dépasse guère le trait d'inoculation, alors que celle du dernier microbe est beaucoup plus développée.

Sur gélatine ou gélose lactosée à 2 p. 100 additionnée de teinture bleue de tournesol, le *Colibacille* développe très vite une nuance rose rouge, due à la production d'acide lactique.

Sur gélose de Ramond additionnée de *rubine acide* et de carbonate de soude pour décolorer (p. 730), le *Colibacille* fait très vite apparaître la teinte rouge qui fonce de plus en plus, par suite de la neutralisation de l'alcali par l'acide lactique produit.

Les milieux colorés au bleu de méthylène, de Robin (p. 730), donneraient aussi de très bons caractères de différenciation.

Cultures dans d'autres milieux. — Il se développe dans l'*urine* fraîche, stérilisée à 100°, sans dégager sensiblement de produits ammoniacaux (p. 755); pas dans les solutions d'urée pure, mal dans les solutions d'urée peptonisées. Sur *bouillie de viande*, les cultures dégagent une odeur très fétide.

Cultures sur milieux vaccinés par le bacille typhique. — Après avoir enlevé la colonie d'une culture sur gélatine ou gélose du *Bacille typhique*, comme il a été dit précédemment (p. 687), si l'on ensemence du *Colibacille* à la même place, ce microbe pousse souvent assez abondamment. Certains types de *Colibacille*, toutefois, se comportent comme le *Bacille typhique* et ne donnent aucune végétation.

Propriétés biologiques.

Vitalité. — Il présente les mêmes caractères que le *Bacille typhique*. Il faut signaler toutefois ce fait important que le *Colibacille* est un

microbe beaucoup plus robuste, à puissance de végétation bien plus énergique que le premier, de telle sorte que, dans un mélange, il l'emporte rapidement et parvient même à étouffer l'autre et le faire disparaître.

Virulence. — Dès le début, Escherisch a très nettement constaté la virulence des cultures, amenant rapidement la mort en injection intraveineuse. Cette particularité, toutefois, n'a acquis de l'importance que plus tard, quand on s'est convaincu du rôle que le *Colibacille* jouait en pathologie.

La virulence est cependant ici une propriété essentiellement contingente, n'apparaissant peut-être que dans des conditions déterminées, pouvant faire complètement défaut à d'autres moments. Certains ont même été conduits à ne la considérer que comme une véritable propriété d'exception, pathologique; le *Colibacille* normal, pour eux, doit en être dépourvu. Parmi les causes qui agissent le plus sur l'apparition de la virulence, se trouvent en première ligne les modifications pathologiques du canal intestinal où le microbe vit en commensal. La virulence peut du reste s'acquérir expérimentalement, par passage dans le péritoine de cobayes par exemple; elle s'atténue aussi et disparaît sous l'influence de bien des causes, le simple vieillissement des cultures ou diverses actions défavorables; par contre, elle peut s'exalter par les procédés habituels.

Produits formés dans les cultures. — Bien que le *Colibacille* puisse végéter abondamment dans la plupart des milieux employés, aux dépens d'une grande quantité de substances diverses, il ne transforme pas ces milieux de façon à les modifier profondément. Les actions qu'il détermine sont plutôt superficielles et n'aboutissent guère à une destruction moléculaire complète. Il est plutôt de ces microbes qui préparent à des modifications profondes.

Pas plus que le *Bacille typhique*, il n'a d'action bien marquée sur les matières albuminoïdes.

Il attaque surtout les *syntonines* et les *peptones*; la réaction, d'abord acide, devient alcaline, par suite de production d'ammoniaque. La caséine n'est pas attaquée ou à peine.

Dans le bouillon peptonisé, il se forme rapidement de l'*indol*. La production est surtout abondante avec la peptone pancréatique, mais s'observe aussi avec les autres peptones. Après un jour ou deux de cultures, au contact de l'air ou à l'abri de l'air, en ajoutant à 10 centimètres cubes de culture 1 centimètre cube de solution de nitrite de potassium à 2 p. 10 000 et 5 à 6 gouttes d'acide sulfurique, on obtient une coloration rosée ou rouge très nette. Péré a montré que la réaction ne se produisait pas, au début du moins, dans les milieux renfermant des sucres; on ne l'obtient que quand le sucre a totalement disparu. La production de l'indol semble également entravée par une culture en couche mince, souvent agitée au contact de l'air, par la présence d'un excès de chlorure de sodium. On l'observe souvent avec les cultures sur pommes de terre. Quand la matière azotée est un sel ammoniacal, de l'asparagine, de la levure, il n'y a pas de formation d'indol; on n'en remarque pas non plus en cultures sur gélatine ou

gélose ne renfermant pas de peptones. Le moyen le plus sûr d'en obtenir, d'après Péré, serait de cultiver le Bacille à 36° dans une solution de peptone pancréatique pure, additionnée seulement d'un peu de phosphate de potasse.

Toutefois, il est des types de *Colibacilles* qui, placés dans les meilleures conditions, ne forment jamais la moindre trace d'indol ; le fait, signalé d'abord par Lembke (1), a été souvent vérifié depuis.

Cette *recherche de l'indol* est un point assez délicat dans la diagnose du *Colibacille* pour qu'on y apporte des soins particuliers (2).

Dans les milieux indiqués, on peut constater, à côté de l'indol, la présence de traces de phénol.

Enfin, dans tous les milieux peptonisés, il se dégage une odeur forte, souvent très fétide, fécaloïde.

Tout ceci montre qu'il y a attaque réelle de la matière albuminoïde, mais attaque faible. Aussi, si le *Colibacille* joue dans la putréfaction des cadavres un rôle aussi important que celui que lui attribue Malvoz (3), c'est plutôt un rôle de préparateur à des actions ultérieures. Il en est

(1) Lembke, *Bacterium coli* anindolicum und *Bacterium coli* anaërogenes (*Arch. für Hygiene*, XXVII, 1896, p. 384).

(2) **Recherche de l'indol.**

La recherche de l'indol dans les milieux de culture peut se faire en mettant en œuvre des procédés divers.

Pour y parvenir plus facilement, il faut opérer sur des cultures de préférence âgées, quatre à huit jours au moins, faites dans des milieux dépourvus de sucres, ou mieux dans de simples solutions de peptones, de préférence pancréatiques, à un taux de 2 à 5 p. 100, additionnées de 0,5 p. 100 de sel. Il est bon, auparavant, d'essayer la peptone dont on veut se servir, certaines peptones donnant elles-mêmes la réaction de l'indol ou contenant du sucre.

On peut employer la réaction au nitrite de potassium et à l'acide sulfurique indiquée page 264.

Il est possible de rendre cette réaction plus sensible en soumettant à la distillation le milieu sur lequel on opère ; on recueille une petite quantité de liquide sur lequel on essaie la réaction.

Il est préférable de recourir à cette modification indiquée par Nencki. On acidule le liquide avec quelques gouttes d'acide acétique cristallisable, puis on ajoute 3 à 4 centimètres cubes d'un mélange d'alcool et d'éther ; après agitation, on recueille l'éther qu'on évapore dans une petite capsule en porcelaine. Sur le résidu, on dépose quelques gouttes de la solution de nitrite de potassium et très peu d'acide sulfurique pur. On peut ainsi révéler des traces d'indol qui pourraient échapper avec le procédé primitif. Il est nécessaire d'essayer d'avance l'alcool qui peut donner la réaction.

La *réaction de Legal-Weyl*, employée pour la recherche de l'acétone, donne également de très bons résultats. A quelques centimètres cubes de la culture, on ajoute quatre à cinq gouttes d'une solution de nitro-prussiate de soude à 5 p. 100, puis, après mélange, quelques gouttes de lessive de soude à 40 p. 100 ; le liquide devient rougeâtre ; en ajoutant une dizaine de gouttes d'acide acétique cristallisable, la coloration vire au bleu verdâtre ou au bleu s'il y a de l'indol.

On peut aussi utiliser la *réaction de Crisafulli* avec le bois de pin (*). On prend un petit copeau bien sec de bois de pin ou d'autre conifère, que l'on plonge dans le liquide à essayer préalablement additionné de une à dix gouttes d'acide chlorhydrique pur. Si le liquide contient de l'indol, le bois se colore en rouge-cerise ou en rouge violet. Le pyrrol donne une même coloration, mais plus écarlate.

(*) Crisafulli, La reazione rossa del legno di pino per la ricerca dell' indolo nelle culture in brodo dei microbi (*Rivista d'Igiene*, 1895, n° 5).

(3) Malvoz, La putréfaction dans ses applications à la médecine légale (*Ann. d'hyg.*, novembre et décembre 1899).

probablement aussi de même du rôle que Gordon (1) lui fait jouer dans les putréfactions végétales, où, d'après lui, il serait l'espèce dominante.

Il ne paraît guère pouvoir attaquer l'amidon cuit, sur lequel la culture reste toujours pauvre.

Son *action sur les sucres* est beaucoup plus marquée.

Escherisch avait déjà signalé l'action fermentative exercée par ce microbe sur les matières sucrées et la production d'acides qui en est la conséquence.

C'est en effet la propriété chimique qui paraît encore aujourd'hui être la plus frappante. Les modifications que le *Colibacille* produit dans les différents milieux qui contiennent des matières sucrées sont des plus intéressantes et ont été surtout étudiées par Baginsky (2), Scruel (3), Ide (4), Chantemesse et Widal (5), Péré (6), Van Ermenghem et Van Laer (7), Nencki, Grimbert (8). Le microbe apparaît comme un agent de transformation énergique des hydrocarbonés solubles.

Le *Colibacille* attaque énergiquement les sucres, à la condition cependant qu'il existe dans le milieu une petite quantité d'azote assimilable.

Dans le bouillon additionné de *glucose*, il végète vigoureusement, aussi bien en présence d'air que sans air. Il se dégage une forte quantité de gaz qui sont surtout de l'hydrogène, les deux tiers presque, de l'acide carbonique pour un autre tiers, et un peu de gaz des marais. Le milieu renferme des acides gras provenant de l'attaque de la molécule sucrée ; ce sont de l'acide formique en faible proportion, de l'acide acétique et de l'acide lactique. La quantité d'acides et leurs rapports entre eux sont les mêmes à l'air ou en l'absence d'oxygène. D'après Nencki et Sieber (9), l'acide lactique formé aux dépens du glucose est de l'acide paralactique dextrogyre ; certaines variétés en donneraient du lévogyre. D'après Péré (10), le *Colibacille* de l'intestin du nourrisson donnerait de l'acide lactique droit, celui de l'intestin de l'adulte de l'acide lactique gauche ; la différence viendrait de ce que le premier prend son azote sous forme ammoniacale. Il se produit en outre un peu d'alcool éthylique que l'on peut constater par la réaction de l'iodoforme.

Dans les milieux contenant du *saccharose*, du *lactose*, la fermentation se passe comme avec le glucose, mais elle est un peu moins énergi-

(1) Gordon, Ueber Faulissbakterien in Obst und Gemüse. Thèse d'Erlangen, 1897.

(2) Baginsky, Zur Biologie der normalen Milchkothbacterien (*Zeitschr. für phys. Chemie*, 1889).

(3) Scruel, Contribution à l'étude de la fermentation du Bacille commun de l'intestin (*La Cellule*, VII, 1891, p. 179).

(4) Ide, Anaérobiose du B. commun de l'intestin et de quelques autres Bactéries (*La Cellule*, VII, 1891, p. 323).

(5) Chantemesse et Widal, Différenciation du B. typhique et du *Bacterium coli commune* (*Soc. de Biol.*, 1891, p. 747).

(6) Péré, Contribution à la biologie du *Bacterium coli commune* et du B. typhique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 512).

(7) Van Ermenghem et Van Laer, Contribution à l'étude des propriétés biochimiques du B. d'Eberth et du *Bacterium coli* (*Bull. de méd. de Gand*, 1892).

(8) Grimbert, Action du Colibacille sur le lactose et le saccharose (*Soc. de Biol.*, 27 juillet 1896).

(9) Nencki et Sieber, Untersuchungen über die chemische Vorgänge im menschlichen Dünndarm (*Arch. für exper. Path.*, XXVIII, 1891).

(10) Péré, Colibacille du nourrisson et Colibacille de l'adulte (*Soc. de Biol.*, 2 mai 1896).

que. L'acide lactique produit est l'acide ordinaire de fermentation, inactif. Grimbert (1) a retiré des selles un *Colibacille* qui donnait de l'acide succinique au lieu d'acide lactique aux dépens du lactose.

La *maltose*, la *malto-dextrine*, la *glycérine*, fermentent aussi énergiquement, à l'air ou sans air; les produits formés sont semblables. D'après Capaldi et Proskauer (2), la *mannite* fermente toujours, même avec l'asparagine ou des sels ammoniacaux comme seule source d'azote. Étienne (3) signale la fermentation rapide du *glycogène*.

L'urée est nettement décomposée par le *Colibacille*, comme l'ont montré Hallé et Dissard (4). Il y aurait réellement formation de carbonate d'ammoniaque, mais en petite quantité. Ces auteurs signalent en outre la production de matière albuminoïde indéterminée aux dépens d'une partie de l'urée.

Outre l'acide carbonique produit dans la fermentation des sucres, on peut constater dans bien des cultures le dégagement de gaz. Bouchard et Chabrié (5) ont signalé, en 1892, la présence de l'azote dans des milieux qui ne contenaient ni nitrates ni nitrites. Lepierre (6) a constaté la production assez constante d'hydrogène et d'azote; elle ne paraît manquer que chez des types anormaux.

Morris (7) et Orlowsky (8) donnent comme régulière la formation de proportions notables d'hydrogène sulfuré.

Comme le *Bacille typhique*, et dans les mêmes conditions (Voy. p. 688), le *Colibacille* attaque énergiquement les nitrates et un peu moins les nitrites avec dégagement d'azote; c'est un microbe dénitrifiant énergique.

Les cultures virulentes renferment souvent des *substances solubles toxiques*. Il ne paraît pas y avoir de rapport entre la propriété fermentative d'un *Colibacille* et la production de substance toxique. Cette substance toxique est très peu connue; on a surtout étudié les effets que produit sur l'animal le bouillon de culture filtré sur bougie Chamberland qui la renferme; ils seront rapportés plus loin.

Malvoz (9), en précipitant du bouillon de culture par le sulfate d'ammoniaque en excès, a obtenu un précipité relativement peu toxique.

Comme d'ordinaire, on donne le nom de *toxine colibacillaire* aux bouillons de cultures privés d'éléments vivants surtout par filtration.

Les effets déterminés par cette toxine seront étudiés plus loin.

(1) Grimbert, Colibacille produisant de l'acide succinique avec le lactose (*Soc. de Biol.*, 15 février 1896).

(2) Capaldi et Proskauer, Beiträge zur Kenntniss der Saürebildung bei Typhusbacillen und *Bacterium coli* (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIII, 1896, p. 452).

(3) Étienne, Action de quelques microbes sur la substance glycogène (*Soc. de Biol.*, 1894).

(4) Hallé et Dissard, Note sur la culture du *Bacillus coli* dans l'urine. Fermentation colibacillaire (*Soc. de Biol.*, 18 mars 1893).

(5) Bouchard et Chabrié, *Soc. de Biol.*, 27 février 1892.

(6) Lepierre, Sur les gaz produits par le Colibacille (*Soc. de Biol.*, 17 décembre 1898).

(7) Morris, Studien über die Produktion von Schwefelwasserstoff, Indol und Merkaptan bei Bakterien (*Arch. für Hygiene*, XXX, 1897, p. 304).

(8) Orlowsky, Beiträge zur Kenntniss der biologischen und pathogenen Eigenschaften des Bakterium coli commune (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 134).

(9) Malvoz, Une épidémie de fièvre typhoïde avec présence du microbe pathogène dans l'eau de boisson (*Ann. de la Soc. méd.-chir. de Liége*, 1891).

Action des conditions de milieu. — *Chaleur.* — D'après Chantemesse et Widal, le *Colibacille* est tué en moins d'une minute par la chaleur humide à 80°; à 58° après cinq minutes, dans les mêmes conditions d'après Malvoz. Il n'est pas tué après une exposition de plusieurs heures à 58° dans une étuve sèche. Sa limite maxima de croissance paraît être vers 46°,5.

Il semble se comporter comme le *Bacille typhique* à l'égard des autres conditions de milieu ; il est peut-être doué d'une résistance un peu plus grande.

Action des antiseptiques. — Leur activité a été peu étudiée. D'après Dunbar (1), le *Colibacille* croît encore sur de la gélose additionnée de 0,14 p. 100 d'acide phénique, 0,065 p. 100 d'acide chlorhydrique, 0,054 p. 100 d'acide sulfurique, 0,09 p. 100 d'acide nitrique ; les doses minima de ces substances qui empêchent tout développement sont : pour l'acide phénique 0,166 p. 100, pour l'acide chlorhydrique 0,07 p. 100, pour l'acide sulfurique 0,063 p. 100, pour l'acide nitrique 0,097 p. 100. Nous avons vu précédemment (p. 711) qu'on pouvait utiliser sa propriété de végéter dans les milieux renfermant une certaine proportion d'acide phénique pour l'isoler facilement.

Inoculation expérimentale.

Escherisch avait déjà signalé l'action pathogène du *Colibacille* sur les petits animaux de laboratoire, particulièrement le cobaye, pouvant succomber en vingt-quatre heures aux inoculations intraveineuses de petites quantités de culture. L'inoculation sous-cutanée ne déterminait qu'un abcès, parfois rien du tout.

Les recherches ultérieures n'ont fait que confirmer et étendre les résultats d'Escherisch et démontrer la virulence réelle du microbe. Il y a cependant des distinctions à établir ; il est de nombreux échantillons qui ne montrent aucune virulence. Lesage et Macaigne (2) ont démontré qu'un *Colibacille normal*, retiré par exemple d'un intestin sain, n'était généralement pas virulent ; mais que dès que l'intestin souffrait, dès qu'il existait de la diarrhée, la virulence apparaissait ou augmentait, et croissait même progressivement au degré de l'inflammation intestinale ; il se formait, pour eux, un véritable *Colibacille pathologique*, ayant un maximum de virulence dans les diarrhées graves, pouvant même être extrêmement virulent et déterminer chez l'animal des septicémies à marche rapide.

La virulence, du reste, s'exalte par passages successifs d'animal à animal ; en se servant du cobaye ou du lapin, et en faisant surtout des inoculations dans le péritoine, il est facile d'obtenir un *Colibacille* doué d'une forte virulence.

Inoculation au cobaye. — *Inoculation sous-cutanée.* — Escherisch a

(1) Dunbar, Untersuchungen über den Typhusbacillus und den *Bacillus coli communis* (*Zeitschr. für Hygiene*, XII, 1892, p. 485).

(2) Lesage et Macaigne, Contribution à l'étude de la virulence du *Bacterium coli commune* (*Arch. de méd. expér.*, IV, 1892, p. 350). — Macaigne, Le *Bacterium coli commune* ; son rôle dans la pathologie. Thèse de Paris, 1892.

obtenu par ce procédé une mort rapide, avec un *Colibacille* provenant de l'intestin normal, par conséquent probablement peu virulent, mais en usant de fortes quantités de produits. L'inoculation de doses moyennes, 1 centimètre cube de bouillon de culture, ne produit le plus souvent qu'une lésion locale, un abcès à évolution lente d'ordinaire. Le pus, qui renferme le microbe en abondance, est épais, riche en grumeaux. Après guérison, il se forme fréquemment une grosse cicatrice autour de laquelle les poils tombent sans repousser plus tard. Une même dose de culture très virulente tue cependant rapidement avec des symptômes septicémiques, comme l'inoculation dans les veines.

Inoculation intraveineuse. — Elle tue l'animal quelquefois en moins de vingt heures. Quelques heures après l'inoculation, l'animal perd sa vivacité, son poil se hérisse ; il montre souvent une diarrhée fétide, crie lorsqu'on le touche.

On trouve, à l'autopsie, des lésions de congestion vasculaire, surtout dans l'intestin et le poumon, et dans le péritoine, le péricarde, la plèvre, un exsudat plus ou moins abondant, très riche en Bacilles. On trouve des Bacilles partout, dans le sang, dans les différents organes, dans l'urine.

Inoculation intrapéritonéale. — Une petite dose de culture dans le bouillon tue souvent le cobaye en vingt-quatre heures, en déterminant une péritonite suppurée. On trouve les mêmes lésions de congestion, surtout sur l'intestin et le poumon.

Inoculation intrapleurale. — Les animaux meurent très vite. A l'autopsie, on trouve une pleurésie séreuse ou séro-hémorragique, une congestion pulmonaire et intestinale, une tuméfaction de la rate.

Inoculation au lapin. — *Inoculation sous-cutanée.* — On observe les mêmes phénomènes de suppuration locale que chez le cobaye ; les cultures à virulence exaltée seules peuvent tuer avec des symptômes septicémiques. Les plaques de Peyer sont tuméfiées.

Inoculation intraveineuse. — Suivant la virulence de la culture et la dose employée, on détermine une septicémie à marche aiguë ou à marche chronique.

Dans la forme aiguë, l'animal peut mourir en vingt heures. On lui trouve les mêmes lésions de congestion, surtout dans l'intestin et le poumon, les mêmes exsudats dans le péritoine, la plèvre et le péricarde, que chez le cobaye. On retrouve des Bacilles partout, jusque dans la moelle.

Dans la forme chronique, l'animal supporte assez bien l'inoculation, puis est pris de diarrhée, maigrit et montre des symptômes de paraplégie (1) ; il finit par succomber après un temps plus ou moins long. On trouve à l'autopsie des lésions analogues à celles de la forme aiguë et des lésions médullaires très accentuées. La surface de la moelle est très vascularisée et la moelle peut être en quelques points ramollie ; c'est dans le bulbe et la moelle qu'on rencontre en dernier lieu les Bacilles quand ils ont disparu des autres organes dans une infection à longue échéance (Thoinot et Masselin).

Inoculation intrapéritonéale. — La mort survient vite avec des lésions de péritonite souvent suppurée. L'exsudat renferme une grande quantité de Bacilles. Le Bacille s'est généralisé ; tous les organes en contiennent.

(1) Gilbert et Lion, Des paralysies produites par le B. d'Escherisch (*Soc. de Biol.*, 13 février 1892).

Inoculation par ingestion. — Boix (1) a vu mourir des lapins, qui ingéraient tous les jours 1 à 2 centimètres cubes de cultures, après un temps variant de treize à cinquante-cinq jours, avec des convulsions et une hypothermie très marquée, la température pouvant tomber à 33°,9.

Inoculation à d'autres animaux. — Escherisch avait donné la *souris* comme réfractaire. Elle succombe rapidement aux inoculations intrapleurale et intrapéritonéale, même en injection sous-cutanée de fortes doses de cultures.

Laruelle (2) a obtenu la mort chez le chien, par injection intrapéritonéale de fortes doses de cultures. Avec les cultures pures, les lésions de péritonite étaient rares ; elles étaient habituelles, au contraire, lorsque du liquide intestinal stérilisé était ajouté à la culture. Ce ne serait donc que dans certaines conditions que le *Colibacille* pourrait être considéré comme le véritable agent des péritonites d'origine intestinale; c'est aussi la conclusion à laquelle est arrivé de Klecki (3) dans ses expériences.

Dans toutes ces inoculations expérimentales, on signale l'exaltation de la virulence du microbe par passages répétés dans l'organisme, surtout en injection intrapéritonéale. La virulence est aussi exaltée par l'action de certaines substances, particulièrement de la toxine typhique, comme l'a montré Sanarelli.

Inoculation de la toxine colibacillaire. — Les bouillons de culture, filtrés sur bougie Chamberland après un assez long temps, possèdent une toxicité réelle. La substance toxique paraît toutefois n'être produite qu'en petites quantités; il faut de fortes doses pour amener la mort. D'après Boix, le phénomène le plus apparent serait l'hypothermie, déjà observée après inoculation de cultures. Gilbert (4) distingue trois phases dans l'intoxication du lapin par la toxine du *Colibacille*. La première est marquée par de l'affaiblissement musculaire, de la somnolence pouvant aboutir au coma. Dans la seconde, à ces symptômes s'ajoutent des secousses convulsives, du nystagmus, de l'hyperexcitabilité réflexe de la peau et des organes des sens. A la troisième, il se produit une contraction tétanique généralisée qui se prolonge jusqu'à la mort. Le cœur est peu modifié ; il bat encore faiblement après l'ouverture de l'animal. Lorsque l'expérience ne dépasse pas les deux premières phases, l'animal fait une intoxication chronique qui se traduit par de la somnolence, la perte des forces, l'émaciation, la diarrhée et souvent, au bout d'un temps plus ou moins long, la mort en hypothermie. A doses insuffisantes pour amener la mort rapide, la toxine a un pouvoir diarrhéigène très marqué ; l'intestin est très irrité et présente parfois des ulcérations et des escarres. Avec des doses faibles et répétées, Haushalter et L. Spillmann (5) ont obtenu, chez les jeunes animaux

(1) Boix, De l'action hypothermisante des produits de culture du *Bacillus coli communis* (*Soc. de Biol.*, 27 mai 1893 et 8 juin 1895).

(2) Laruelle, Étude bactériologique sur les péritonites par perforation (*La Cellule*, V, 1889, p. 59).

(3) De Klecki, Recherches sur la pathogénie de la péritonite d'origine intestinale ; étude de la virulence du Colibacille (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 710).

(4) Gilbert, Des poisons produits par le B. intestinal d'Escherisch (*Soc. de Biol.*, 25 février 1893).

(5) Haushalter et L. Spillmann, Infections et intoxications colibacillaires expérimentales chez les jeunes animaux (*Soc. de méd. de Nancy*, 10 mai 1899).

un état d'amaigrissement considérable aboutissant à une véritable cachexie avec arrêt de développement manifeste, qu'ils rapprochent de ce qui s'observe dans la cachexie infantile d'origine gastro-intestinale.

Chez la grenouille, Roger (1) observe aussi trois périodes : une période de parésie initiale, une d'hyperexcitabilité, une de paralysie terminale.

Le poison paraît agir sur la moelle et, accessoirement, sur les muscles striés et le cœur.

Immunité et sérothérapie.

Cesaris-Demel et Orlandi (2) ont conféré les premiers l'immunité aux lapins et aux cobayes par l'injection de liquides filtrés sur bougie Chamberland, de cultures bouillies ou d'extraits glycériques. L'immunité obtenue durerait au moins un mois. Salvati et Gaetano (3), avec un *Colibacille* bien virulent, ont obtenu une immunité plus marquée et plus durable.

Ces observateurs signalent les propriétés préventives et curatives, à l'égard des infections colibacillaires, du sérum des animaux ainsi vaccinés.

Dans le but d'obtenir un sérum utilisable dans le traitement des infections urinaires fréquemment dues au *Colibacille*, Albarran et Mosny (4) injectent alternativement des filtrats de macération d'organes d'animaux morts d'infections colibacillaires et des cultures virulentes. Le sérum des animaux ainsi traités immunise le cobaye à la dose de un vingtième de centimètre cube contre la dose mortelle de culture inoculée vingt-quatre heures après. Un cobaye vacciné avec un quart de centimètre cube de ce sérum a résisté à l'inoculation de vingt fois la dose mortelle faite vingt-quatre heures après. Le pouvoir curateur de ce sérum n'est pas moindre : les cobayes infectés avec deux fois la dose de culture mortelle pour les témoins survivaient lorsque, deux heures après l'inoculation infectante, ils recevaient 2 centimètres cubes de sérum.

En raison de l'importance que le *Colibacille* prend dans la pathologie humaine, on peut espérer tirer de bons résultats de l'emploi de tels sérums.

Nous avons vu précédemment (p. 702) que Cesaris-Demel et Orlandi, Sanarelli ont pu établir la vaccination réciproque du *Colibacille* et du *Bacille typhique* ; des essais suivis de bons résultats ont même été tentés sur l'homme.

Habitat et rôle étiologique.

Le *Colibacille* est un microbe extrêmement répandu.

On le trouve normalement dans le tube digestif de l'homme et de

(1) Roger, Toxines du *Bacterium coli* (*Soc. de Biol.*, 6 mai 1893).

(2) Cesaris-Demel et Orlandi, Sur l'équivalence biologique des produits du *B. coli* et du *B. typhi* (*Arch. ital. de biol.*, XX, 1894, p. 219).

(3) Salvati e Gaetano, Immunisazione alle lesione chirurgiche da *Bacterium coli commune* e loro cura con tossine e siero antitossico (*La Riforma medica*, II, 1895, p. 506).

(4) Albarran et Mosny, Recherches sur la sérothérapie de l'infection urinaire (*Acad. des sc.*, 4 mai 1896).

beaucoup d'animaux, depuis la bouche jusqu'à l'anus. Dans l'intestin sain, c'est certainement l'espèce de beaucoup prépondérante ; très souvent, les cultures du contenu intestinal ou des fèces le donnent en culture pure,

Dans le milieu extérieur, c'est un des saprophytes les plus répandus, provenant, à n'en pas douter, des matières fécales largement disséminées partout.

C'est, comme l'a démontré Escherisch, le premier microbe qui se rencontre dans l'intestin de l'enfant nouveau-né quelques heures déjà après la naissance, alors qu'auparavant cet intestin ne renferme aucun germe. Il y est amené par la déglutition, entraîné avec la salive, provenant des poussières extérieures.

Vignal (1) l'a, le premier, trouvé dans la bouche; Grimbert et Choquet (2) l'y ont constaté 45 fois sur 100 et de préférence sur les amygdales.

Après la mort, il envahit souvent rapidement l'organisme. Gilbert et Girode l'ont trouvé dans la bile deux fois sur huit, vingt-quatre heures après la mort ; d'autres, seulement quelques heures après. Le foie et les organes sont assez rapidement envahis (3), surtout en été, moins en hiver, d'après Lesage et Macaigne. D'après ces derniers, cependant, les diarrhées et les ulcérations intestinales seraient une condition indispensable de l'envahissement se produisant en moins de vingt-quatre heures avant la mort.

Chez l'homme à l'état normal, il ne paraît avoir aucune signification ; il joue le simple rôle de saprophyte, comme les nombreuses autres espèces qui l'accompagnent souvent. Il ne possède que peu de virulence ou même s'en montre complètement dépourvu. Cependant, c'est un commensal plutôt nuisible qu'utile, dégageant dans l'intestin des gaz, des odeurs fétides, y produisant des substances toxiques.

Dès que l'intestin souffre, il gagne de la virulence et est alors à craindre ; il peut traverser les parois enflammées, ou élabore une toxine qui, n'étant plus détruite par l'activité de l'épithélium intestinal, est résorbée et produit des accidents; c'est alors un véritable microbe pathogène.

Disséminé dans le milieu extérieur par les matières fécales, il peut se rencontrer dans l'eau, où sa présence est d'un mauvais indice, par elle-même d'abord, ensuite, comme nous l'avons vu, parce qu'elle peut masquer celle du Bacille typhique ; dans le sol, où il peut vivre longtemps ; dans certains aliments, le lait principalement, qui en contient toujours après la traite et où il pullule abondamment en produisant des substances toxiques. C'est probablement souvent lui qui produit la toxicité de certains laits, crèmes, fromages.

Pour le rechercher dans l'eau, il est nécessaire de faire l'analyse de suite après le prélèvement, ou tout au moins maintenir les échantillons dans la glace, pour éviter la pullulation du microbe, facile aux tempé-

(1) Vignal, Recherches sur les microorganismes de la bouche (*Arch. de phys.*, 1886).

(2) Grimbert et Choquet, Sur la présence du Colibacille dans la bouche de l'homme sain (*Soc. de Biol.*, 19 octobre 1895).

(3) Wurtz et Herman, *Bacillus coli* dans les cadavres (*Arch. de méd. expér.*, 1891, p. 734). — Achard et Phulpin, Envahissement des organes pendant l'agonie et après la mort (*Ibid.*, 1895).

ratures ordinaires, comme le montrent des recherches de Freudenreich (1). Il est d'une très grande importance, lorsqu'il y est constaté, de rechercher son degré d'activité au moyen de l'injection intrapéritonéale au cobaye, procédé que recommande Blachstein (2). De plus amples détails ont déjà été donnés précédemment à propos du *Bacille typhique* et seront encore donnés plus loin, au chapitre de l'*Analyse bactériologique de l'eau.*

Les manifestations pathologiques qu'il peut déterminer sont extrêmement nombreuses. Il n'est guère d'organe ou de système qui soit à l'abri de son action; de même, il peut, suivant le cas, occasionner des symptômes extrêmement variés, de telle sorte qu'on peut véritablement le considérer comme propre à tout faire.

L'*intestin* est naturellement l'organe le plus disposé à être atteint. On l'a signalé comme cause de certaines amygdalites (3) ; on le trouve assez fréquemment dans les fausses membranes diphtéritiques (p. 623). Hueppe (4), Gilbert et Girode (5), reconnaissent qu'il est capable de donner naissance au choléra nostras, fait bien confirmé depuis. Lesage (6), Macé et Simon (7), l'incriminent spécialement dans la production du choléra infantile ; pour Nobécourt (8), il faudrait surtout tenir compte ici de l'association du *Colibacille* avec le *Streptocoque* ou l'*Entérocoque.* Marfan et Lion (9), Maggiora (10) dans la dysenterie ; Arnaud (11) dans la dysenterie des pays chauds; Veillon et Jayle (12) l'ont trouvé dans le pus d'abcès du foie consécutifs à la dysenterie. De nombreuses observations démontrent qu'il joue un rôle certain dans bien des diarrhées simples, aiguës ou chroniques.

De Klecki montre par ses expériences qu'il a la plus grande part dans la production des accidents de l'étranglement herniaire (choléra herniaire). Il joue un rôle certain dans la genèse de l'appendicite ; de Klecki (13) a démontré expérimentalement que le *Colibacille* intestinal exaltait notablement sa virulence dans un segment d'anse intestinale,

(1) Freudenreich, De la recherche du *Bacillus coli* dans l'eau (*Ann. de micr.*, VIII, 1896, p. 414).

(2) Blachstein, Contribution à l'étude microbique de l'eau (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 689).

(3) Lermoyez, Helme et Barbier, Un cas d'amygdalite colibacillaire (*Sem. méd.*, 1894, p. 297).

(4) Hueppe, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1887, p. 32.

(5) Gilbert et Girode, Contribution à l'étude clinique et bactériologique du choléra nostras (*Sem. méd.*, 1894, p. 48).

(6) Lesage, Entérites et *Bacillus coli* (*Soc. méd. des hôp.*, janvier 1892).

(7) Macé et Simon, Diarrhées infectieuses chez les enfants (*Revue gén. de clin. et de thérapeutique*, 1891, n° 49).

(8) Nobécourt, Sur la pathogénie des affections gastro-intestinales des jeunes enfants (*Sem. méd.*, 1899, n° 22, p. 169, et Thèses de Paris, 1899).

(9) Marfan et Lion, *Soc. de Biol.*, 24 octobre 1891.

(10) Maggiora, Einige mikroscopische und bakteriologische Beobachtungen während einer epidemischen dysenterischen Dickdarmentzündung (*Centralbl. für Bakt.*, XI, 1892, p. 173).

(11) Arnaud, Recherches sur l'étiologie de la dysenterie aiguë des pays chauds (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1892, p. 495).

(12) Veillon et Jayle, *Soc. de Biol.*, 1892.

(13) De Klecki, Contribution à la pathogénie de l'appendicite (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 480).

transformé par deux ligatures en une cavité close, processus reproduisant ce qui se passe souvent dans l'appendicite de l'homme. Toutefois, il n'est pas ici le seul à mettre en cause ; d'autres microbes, aérobies ou anaérobies, agissent en même temps.

Castellani (1) l'a trouvé en culture pure dans le liquide du sac de hernies étranglées.

Laruelle a nettement démontré son rôle dans les péritonites par perforation. Malvoz a publié des observations de péritonite où ce microbe se rencontrait à l'état pur dans l'exsudat et où l'autopsie ne révélait aucune perforation. Talamon l'incrimine dans l'appendicite sans perforation.

De l'intestin, il peut remonter dans le foie par le canal cholédoque, occasionnant des angiocholites et cholécystites souvent suppurées. Il paraît tenir le premier rang dans l'étiologie de certains ictères, particulièrement l'ictère grave infectieux. On a émis l'opinion qu'il pouvait occasionner certaines formes de la lithiase biliaire.

Il peut envahir de la même façon le pancréas et déterminer des pancréatites simples ou suppurées; P. Carnot (2) a reproduit les mêmes lésions expérimentalement, par injection intraglandulaire ou par infection ascendante.

Il peut occasionner, seul ou en association le plus souvent, des pneumonies, broncho-pneumonies, pleurésies, comme le démontrent nombre d'observations ; dans ce cas, la fétidité des crachats paraît caractéristique. Il en est de même de certaines formes de méningites, de myélites d'origine infectieuse.

Les organes urinaires sont aussi des plus exposés ; le *Colibacille* est l'agent pathogène qui attaque le plus souvent les reins et la vessie ; Bouchard l'a signalé depuis longtemps comme l'agent spécifique de l'infection urinaire. Il provient très probablement directement de l'intestin et envahit progressivement le système urinaire en suivant une marche ascendante. Les *Bactéries septiques de l'urine* de Clado, d'Albarran et Hallé et d'autres, sont ou le *Colibacille* ou l'espèce voisine, *Bacillus lactis aerogenes* (Voy. p. 771). C'est certainement l'agent de beaucoup le plus commun des cystites. Pluym et Laag (3), Pezzoli (4), décrivent une urétrite à *Colibacilles* avec nombreux bâtonnets dans les globules de pus. On l'a signalé dans les vulvo-vaginites des petites filles ; certaines métrites et salpingites semblent être déterminées par lui.

Il a des propriétés pyogènes manifestes ; de très nombreuses observations le démontrent. Nous avons vu, du reste, que l'expérience lui faisait souvent reconnaître des propriétés pyogènes ; Lesage et Macaigne en font l'attribut du *Colibacille* peu virulent. Il paraît jouer un rôle important dans l'étiologie des phlegmons gazeux (5).

(1) Castellani, *Riforma medica*, 1899.

(2) P. Carnot, Pathogénie des pancréatites (*Presse méd.*, I, 1898, p. 249) ; et : Thèse de Paris, 1898.

(3) Pluym et Laag, Der *Bacillus coli communis* als Ursache einer Urethritis (*Centralbl. für Bakt.*, XVII, 1895, p. 233).

(4) Pezzoli, Zur Histologie des gonorrhoischen Eiters (*Arch. für Dermat.*, 1895).

(5) Dungern, Ein Fall von Gasphlegmone unter mittebeiligung des *Bacterium coli* (*Münch. med. Wochenschr.*, 1893, n° 40). — Bunge, Zur Aetiologie der Gasphlegmone (*Fortschr. der Med.*, 15 juillet 1894).

Lannelongue et Achard (1) l'ont trouvé en culture pure dans un abcès de la marge de l'anus ; on doit du reste lui rapporter le *Bacillus pyogenes fœtidus* signalé dans les mêmes conditions par Passet (p. 765).

Werner (2) l'a rencontré dans des suppurations sinusiennes fétides ; Ménière (3) et Stern (4) dans le pus d'otite moyenne.

Tavel (5) signale plusieurs cas d'infection de plaies par ce microbe, chez des individus souffrant de diarrhée putride.

Enfin, le *Colibacille*, partant d'une lésion quelconque, peut envahir tout l'organisme, déterminer une infection générale avec manifestations multiples et variées. Dans ces infections, on remarque souvent des endocardites, de l'ictère ; bien des cas d'ictère grave sont dus à ces formes d'infection ; Étienne (6) a signalé du purpura ; des accidents myélopathiques, des méningites.

Eisenhart (7) et Kerr (8) ont décrit des septicémies puerpérales causées par le *Colibacille.*

On rapporte à ce même microbe certaines intoxications alimentaires occasionnées par du laitage ou des fromages (9). Elles seraient dues à des toxines produites par la pullulation aux dépens du milieu. Toutefois, il est d'autres espèces très voisines qui sont principalement à incriminer dans ces conditions (p. 779 et suiv.).

Le *Colibacille* joue également un grand rôle dans la pathologie des animaux domestiques. D'après Jensen (10), il faudrait lui rapporter bien des entérites de la vache, la diarrhée des veaux, des péritonites chez le chien et la vache, les cystites et pyélonéphrites du chien, du porc et des ruminants, certaines mammites de la vache, bien des pneumonies du chien. San Felice (11) le donne comme pouvant causer une maladie infectieuse chez les pigeons, une véritable *septicémie des pigeons.* Les poules paraissent aussi sujettes aux infections colibacillaires ; Lignières (12) et Martel (13) signalent une *septicémie des poules* et une *septicémie des dindes* dues au *Colibacille.* C'est probablement encore au *Colibacille* qu'est due la *septicémie des faisans* observée par Klein (14).

(1) Lannelongue et Achard, Abcès de la marge de l'anus par le Colibacille (*Bull. méd.*, 1893, p. 75).

(2) Werner, Congrès des laryngologistes de l'Allemagne du Sud, 1895.

(3) Ménière, Manuel d'otologie clinique, 1894.

(4) Stern, *Arch. of Otology*, avril 1896.

(5) Tavel, Infection des plaies par le *Bacterium coli commune* (*IIe Assemblée gén. des méd. suisses*, 1889).

(6) Étienne, Les pyosepticémies médicales. Thèse de Nancy.

(7) Eisenhart, Puerperale Infektion mit tödlichem Ausgang, verursacht durch *Bacterium coli commune* (*Arch. für Gynæk.*, XLVII, 1894).

(8) Kerr, Septicémie puerpérale causée par le Colibacille (*The Glascow med. Journ.*, septembre 1899).

(9) Axel Holst, Beobachtungen über Käsevergiftungen (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 160).

(10) Jensen, *Bacterium coli commune* som Sygdomsaarsag bo Dyrene (*Maanedsskrift für Dyslarger*, VIII, 1896, p. 193).

(11) San Felice, Ueber einige Infektionskrankheiten der Hausthiere in Sardinien. V. Ein Seuche bei Tauben durch *Bacterium coli* verursacht (*Zeitschr. für Hygiene*, XX, 1895, p. 23).

(12) Lignières, Septicémie à Colibacille chez la poule (*Soc. de Biol.*, 1894, p. 135).

(13) Martel, Maladie à Colibacille chez la poule et chez la dinde (*Soc. de Biol.*, 1897, p. 500).

(14) Klein, On acute infectious disease of young pheasants (*Journ. of Path. und Bact.*, II, 1893, p. 214).

Il peut être dangereux de consommer des viandes d'animaux ainsi infectés; certains empoisonnements par les viandes paraissent devoir être rapportés au *Colibacille*.

Dans cette question de présence et de diffusion du *Colibacille* dans l'organisme, il est nécessaire de tenir compte des faits, déjà signalés précédemment (p. 95), d'envahissement du *Colibacille* intestinal se faisant après la mort, pendant la période agonique ou dans certaines conditions pathologiques, envahissement qui peut alors en imposer à l'examen bactériologique pour une infection colibacillaire.

Le passage du *Colibacille* de l'intestin dans la circulation générale et dans les organes, après la mort, est démontré par les recherches de Wurtz et Herman (1), de Beco (2), d'Achard et Phulpin (3); Ménétrier et Macaigne (4), Welch (5), observent toutefois que le phénomène n'est pas aussi constant qu'on le pense et exige, pour s'opérer, des conditions spéciales, surtout une lésion de la muqueuse intestinale, ulcération, inflammation, traumatisme quelconque par exemple, troubles digestifs en général. Beco a même montré que, dans certains cas, l'envahissement de la circulation générale et des organes profonds par les microbes intestinaux, et tout particulièrement le *Colibacille*, pouvait se faire avant la mort, pendant la période agonique. Il a pu déterminer les mêmes faits en intoxiquant des animaux par des substances qui irritent violemment l'intestin, la cantharidine et l'émétique par exemple, lorsque l'intoxication n'est pas rapidement mortelle. Wurtz et Hudelo (6) ont remarqué le même envahissement du *Colibacille* dans le péritoine et dans le sang chez des lapins tués en pleine période de coma alcoolique. Il est nécessaire d'avoir ces faits présents à l'esprit avant d'émettre une opinion bien ferme.

On peut se rendre compte, par ce très court aperçu, de l'importance pathologique qu'on doit reconnaître à ce microbe. Les accidents qu'il détermine se laissent difficilement réunir en un groupe naturel, à cause de leur multiplicité. On a cependant essayé de faire de leur étude un type spécial de processus infectieux, la *Colibacillose*. On trouvera de nombreux renseignements et détails à la belle monographie de Gilbert, parue sous ce titre dans le *Traité de médecine* de Brouardel, et surtout dans une revue récente d'Étienne (7).

Recherche et diagnostic.

On a vu, par l'exposé des différents caractères, que le *Colibacille* qu'on peut qualifier de normal était relativement facile à reconnaître. On

(1) Wurtz et Herman, De la présence fréquente du Colibacille dans les cadavres (*Arch. de méd. expér.*, 1891).

(2) Beco, Étude sur la pénétration des microbes intestinaux dans la circulation générale pendant la vie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 199).

(3) Achard et Phulpin, Envahissement des organes pendant l'agonie et après la mort (*Arch. de méd. expér.*, 1895).

(4) Macaigne, Le *Bacterium coli commune*; son rôle dans la pathologie. Thèse de Paris, 1895, p. 25.

(5) Welch, *The medical News*, 1891.

(6) Wurtz et Hudelo, Issue des Bactéries intestinales dans le péritoine et dans le sang pendant l'intoxication alcoolique aiguë (*Soc. de Biol.*, 1895, p. 51).

(7) Étienne, Les infections colibacillaires. Paris, Alcan, 1899.

arrive au diagnostic surtout en se basant sur la forme des éléments, leur faible motilité, la présence des cils vibratiles, leur nombre et leur disposition, leur décoloration par la méthode de Gram, la non-liquéfaction de la gélatine, l'aspect de la culture sur pomme de terre, la coagulation du lait, le dégagement de gaz dans les milieux lactosés, la production d'ordinaire abondante d'indol.

La différenciation d'avec le *Bacille typhique* est un problème plus difficile ; les détails donnés plus haut (p. 726) suffisent pour ne pas y revenir.

La recherche dans les différents milieux se fait par les mêmes procédés que pour ce dernier microbe (p. 755) ; la prédominance que le *Colibacille* tend à prendre dans un mélange n'en rend l'isolement que plus facile.

La très grande variabilité du *Colibacille* fait cependant que souvent le problème se complique. Il faut alors tenir compte de la présence possible de ces *Colibacilles* anormaux qui peuvent se rencontrer, dans les eaux par exemple, à côté du type tout à fait normal, et ne pas rejeter l'identification parce que l'un ou l'autre des caractères recherchés manque ou est insuffisamment marqué.

Parmi les caractères reconnus classiques au *Colibacille*, il en est toutefois qui, dans certains types, peuvent se trouver amoindris ou même disparaître. La motilité, dans quelques cas, le pouvoir fermentatif sur les sucres, la coagulation du lait, la production d'indol, sont de ceux-là. L'une quelconque de ces propriétés disparaissant, alors que les autres caractères communs subsistent, doit-on en faire des types spécifiquement distincts ? En se basant sur ce que nous savons de la contingence de bien des caractères biologiques des microbes, production de pigment, pouvoir fermentatif, etc., il semble bien qu'on puisse donner une réponse négative et considérer ces formes comme de simples variétés chez lesquelles l'un ou l'autre des caractères secondaires se serait progressivement atténué jusqu'à disparaître.

C'est le cas, par exemple, de plusieurs des formes désignées sous le nom de *Paracolibacilles* par Gilbert et Lion (1). Leur *1er Paracolibacille* est immobile ; leur *2e Paracolibacille* ne produit pas d'indol ; leur *3e Paracolibacille* n'a pas d'action sur le lactose ; leur *4e Paracolibacille* ne produit pas d'indol et ne fait pas fermenter le lactose ; enfin leur *5e Paracolibacille* est immobile, ne produit pas d'indol, ne fait pas fermenter le lactose. On est certainement en présence ou de variétés simples du *Colibacille*, ou d'espèces voisines différentes ; d'après eux, même, le *1er Paracolibacille* ne pourrait être différencié du *Bacillus lactis aerogenes*.

Il est un certain nombre d'espèces qui, décrites sous des noms différents, surtout à une époque où l'on ne savait pas la grande dissémination du *Colibacille* et où l'on connaissait moins ses caractères, ne peuvent en être séparées aujourd'hui.

Le *Bacillus pyogenes fœtidus*, de Passet (2), n'est certainement pas à différencier du *Colibacille* qui développe fréquemment, dans les cultures

(1) Gilbert et Lion, Contribution à l'étude des Bactéries intestinales (*Sem. méd.*, 1893, p. 130).

(2) Passet, Ueber Mikroorganismen der eitrigen Zellgewebsentzündung des Menschen (*Fortschr. der Med.*, 1885), et Untersuchungen über die Aetiologie der eitrigen Phlegmone des Menschen. Berlin, 1885.

et dans les tissus, l'odeur fétide que Passet considérait comme spéciale.

Passet l'a isolé du pus d'un abcès de la marge de l'anus. Ce pus dégage une odeur putride excessivement pénétrante, qui est, en partie seulement, reproduite dans les cultures de ce Bacille. Il a depuis été retrouvé dans d'autres suppurations.

Ce sont de courts bâtonnets, mesurant 1,45 μ de longueur et 0,58 μ d'épaisseur, à extrémités arrondies, réunis à deux ou à plusieurs et doués d'un mouvement lent. Ils se cultivent facilement et présentent dans leur intérieur, surtout dans les vieilles cultures, des points brillants que Passet regarde comme des spores.

En culture sur plaques, le développement est rapide ; en vingt-quatre heures, on aperçoit dans la gélatine de petits points blanchâtres. Les colonies de la surface grandissent rapidement et donnent des taches grises, arrondies, qui peuvent atteindre 1 centimètre de largeur et confluent souvent avec les voisines ; elles sont plus épaisses et d'un blanc opaque au milieu, plus minces et presque transparentes aux bords. Elles ne liquéfient pas la gélatine.

En piqûre dans un tube de gélatine, il se forme à la surface une couche muqueuse, grisâtre, transparente, à bords irréguliers et dans le canal une mince culture hyaline, formée de petites colonies punctiformes. Dans les vieilles cultures, on voit souvent la partie supérieure de la gélatine devenir trouble.

Sur pomme de terre, la culture est abondante, colorée en brun clair ; sur sérum, elle donne une bande grisâtre.

Toutes les cultures dégagent une odeur fétide spéciale.

Les cultures tuent en vingt-quatre heures les cobayes et les souris, en inoculation sous la peau. On trouve à l'examen de nombreux Bacilles dans le sang, mais pas du tout dans les tissus ni au point d'inoculation. Les lapins se montrent réfractaires.

Rien, en somme, ne peut le distinguer d'un Colibacille virulent (1).

Le *Bacillus neapolitanus*, d'Emmerich (2), n'est autre que le *Colibacille* ; Emmerich l'a isolé de cadavres de cholériques à Naples, en 1884, et l'a considéré, sans preuve aucune du reste, comme le véritable agent pathogène de cette affection. Il l'avait rencontré dans le contenu intestinal, dans les organes de neuf cholériques, à l'autopsie, et une fois dans le sang pris à une personne atteinte de choléra asphyxique, quelques heures avant la mort. Huit fois sur dix, d'ailleurs, il signale la présence des *Bacilles virgules* chez les mêmes individus. Voici, du reste, les caractères qu'il lui attribue :

Ce sont des bâtonnets courts et gros, mesurant 1,4 μ de long et 0,9 μ de large ; ils sont isolés, ou réunis par deux, rarement par quatre et manifestement immobiles. Ils se colorent bien par les procédés ordinaires et se décolorent par la méthode de Gram. On les cultive facilement sur tous les milieux à la température ordinaire ; ils semblent pouvoir se développer sans oxygène.

En culture sur plaques, il se forme dans la gélatine des colonies

(1) Abba, Contributo allo studio del *Bacillus coli communis* e del *Bacillus pyogenes fœtidus* (*Annali d'Igiene sperimentale*, I, 1892).

(2) Emmerich, Ueber die Cholera in Neapel und die in Choleraleichen und Cholerakranken gefundenen Pilze (*Arch. für Hygiene*, II, p. 412).

fusiformes, jaunâtres, à contenu granuleux. Celles qui atteignent la surface donnent de petits îlots transparents formés d'une partie centrale jaunâtre, assez épaisse, et d'une zone périphérique plus mince, hyaline, paraissant irisée à la lumière oblique, à bords sinueux, d'où partent parfois des sillons radiaires. Ces colonies ont de la tendance à s'étendre en surface et ne liquéfient pas la gélatine.

Sur gélatine, les cultures sont claires, laiteuses, transparentes, un peu semblables à celles du *Bacille typhique*.

Sur gélose, la couche est plus épaisse, humide, blanchâtre.

Sur pomme de terre, il se produit, le long de la strie d'inoculation, une bande muqueuse, colorée en jaune brun.

L'action pathogène de cet organisme est bien marquée, sans présenter cependant rien de particulier. Des injections de cultures pures faites sous la peau, dans les poumons et la cavité abdominale de cobayes, de chiens, de chats et de singes, ont déterminé chez ces animaux de fortes irritations intestinales qui, dans certains cas, ont amené la mort en quarante-huit heures. A l'autopsie, Emmerich signale une rate normale, des ecchymoses dans le cæcum et le gros intestin, un gonflement des ganglions du mésentère, et retrouve des Bacilles dans tous les organes, mais aucun symptôme rappelant, même de loin, ceux du choléra. Weisser (1), qui a répété ces expériences, assure même que lorsque la mort survient, ce qui est rare, c'est toujours sans vomissements, sans diarrhée liquide et sans crampes.

C'est évidemment au *Colibacille* qu'Emmerich a eu affaire.

C'est sans doute aussi le *Colibacille* que Clado (2) décrit comme *Bactérie septique de la vessie*, Achard et Renault (3) comme *Bactérie pyogène de la vessie*. Le *Colibacille* et l'espèce voisine *Bacillus lactis aerogenes* semblent jouer le rôle prédominant dans les infections urinaires (Voy. plus loin : *Bacilles des urines pathologiques*.

Enfin, d'autres espèces se rapprochent beaucoup du *Colibacille* sans qu'il soit possible de les lui rapporter sûrement aujourd'hui. C'est le *Bacillus lactis aerogenes*, le *Bacille de la dysenterie épidémique* de Chantemesse et Widal, le *Bacillus enteritidis*, le *Bacillus endocarditis griseus*, le *Bacille de l'endocardite* de Gilbert et Lion, d'autres microbes encore. Les caractères différentiels ne sont pas nombreux ni des plus importants, comme on le verra dans les descriptions qui vont suivre. Malgré cela, il serait téméraire encore de vouloir les confondre ; ce sont peut-être des variétés qui se sont différenciées d'un même type spécifique, mais qui aujourd'hui semblent bien distinctes.

On peut néanmoins se convaincre que toutes les espèces actuelles, *Bacille typhique* et *Colibacille* en tête, ont des ressemblances telles qu'elles forment vraiment un groupe naturel bien évident.

Agglutination et séro-diagnostic.

Le sérum sanguin de malades atteints d'infections colibacillaires

(1) Weisser, Ueber die Emmerich'schen sogenannten Neapler Cholerabacterien (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 2e p., p. 315).

(2) Clado, Étude sur une Bactérie septique de la vessie. Thèse de Paris, 1887.

(3) Achard et Renault, Sur les différents types de B. urinaires appartenant au groupe du *Bacterium coli* (*Soc. de Biol.*, 1892, p. 983).

fournit souvent une réaction d'agglutination très nette avec une culture de *Colibacille*. D'un autre côté, le sérum humain normal montre assez souvent la même réaction, quoique peut-être moins marquée. De plus, il existe ici des différences très grandes tenant à l'existence de nombreux types du même microbe, de telle sorte qu'on peut observer des résultats positifs avec un ou plusieurs types, tandis qu'ils manquent complètement avec d'autres. Le sérum d'un malade donné sera nettement agglutinant pour le microbe occasionnant lui-même l'infection, alors qu'il sera sans effets sur des types autres ou d'une provenance différente.

On peut faire les mêmes remarques avec les sérums d'animaux immunisés expérimentalement. Ces sérums pourront très nettement réagir sur le microbe qui a formé la toxine ayant servi à l'immunisation et ne rien donner avec des types autres.

On est loin ici de la précision de ces mêmes phénomènes avec le *Bacille typhique*. Il est difficile de les utiliser comme caractère différentiel général (1).

BACILLUS LACTIS AEROGENES Escherisch.

Atlas de microbiologie, pl. XXI.

Escherisch (2) l'a rencontré abondamment dans l'intestin de l'homme et des animaux nourris de lait, surtout des nourrissons ; il en a également signalé la présence dans l'intestin de l'adulte, à côté de l'espèce précédente. Depuis, il a été retrouvé dans bien des milieux. Considéré longtemps comme un saprophyte, il a été reconnu nettement pathogène quand Morelle (3) l'a identifié aux Bactéries décrites dans l'infection urinaire. Wurtz et Leudet (4), Denys et Martin (5), se basant surtout sur son action sur les animaux, croient qu'il n'est pas à distinguer du *Ferment lactique* de Pasteur. Il présente, en outre, de nombreux points de ressemblance avec le *Colibacille* d'un côté, le *Pneumobacille de Friedlaender* de l'autre; les derniers auteurs cités croient même qu'il n'y a pas à séparer spécifiquement ces microbes. Tout en reconnaissant les grandes affinités que ces diverses Bactéries ont entre elles et en admettant qu'on doit les rapprocher dans un même groupe naturel, il peut être encore prématuré d'affirmer leur identité absolue. Il paraît bien préférable de les décrire séparément et d'admettre leur distinc-

(1) Lesage, Contribution à l'étude des entérites infantiles Séro-diagnostic. Des races de *Bacterium coli* (*Soc. de Biol.*, 16 octobre 1897). — Widal, De la séro-réaction dans les infections colibacillaires (*Ibid.*). — Widal et Nobécourt, Séro-réaction dans une infection à paracolibacille (*Sem. méd.*, 4 août 1897, p. 285). — Nobécourt, De la non-spécificité des infections gastro-intestinales des jeunes enfants (*Soc. de Biol.*, 26 novembre 1898).

(2) Escherisch, Die Darmbacterien der Saüglings und ihre Beziehung zur Physiologie der Verdaung (*Fortschr. der Med.*, 1885) ; et : Beiträge zur Kenntniss der Darmbacterien (*Münch. med. Wochenschr.*, 1886, p. 43).

(3) Morelle, Étude bactériologique sur les cystites (*La Cellule*, 1892).

(4) Wurtz et Leudet, Recherches sur l'action pathogène du B. lactique (*Arch. de méd. expér.*, 1891, p. 485).

(5) Denys et Martin, Sur les rapports du Pneumobacille de Friedlaender, du ferment lactique et de quelques autres organismes avec le *Bacillus lactis aerogenes* et le *Bacillus typhosus* (*La Cellule*, IX, 1893).

tion, basée sur des raisons sérieuses, jusqu'à plus ample informé au moins, tout en signalant leurs ressemblances.

Morphologie. — Caractères microscopiques. — Ce sont des bâtonnets courts et épais, à extrémités arrondies, mesurant de 1 à 2 μ de longueur, sur une largeur variant de 0,5 à 1 μ. Ils se présentent isolés, réunis par deux ou en petits amas. Ils sont toujours immobiles. Ils ne forment pas de spores.

Les variations de forme sont peut-être encore plus marquées ici qu'avec le *Colibacille* (1).

Coloration. — Ils se colorent facilement aux procédés ordinaires et se *décolorent* par la méthode de Gram.

Cultures. — Cultures sur plaques de gélatine. — Les colonies, qui se développent dans l'épaisseur de la gélée, sont sphériques, jaunâtres, granuleuses; celles de la surface forment de petits disques opaques, d'un blanc de porcelaine, souvent à centre déprimé. D'ordinaire peu transparentes, elles peuvent, en s'étalant un peu, prendre un aspect qui rappelle de loin les colonies du *Bacille typhique*; mais cette forme est rare. La gélatine n'est jamais liquéfiée.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre*, il se produit une culture en clou, blanche, à tête assez proéminente ou étalée en pellicule; dans le canal, il se développe des colonies rondes, plus ou moins isolées, blanchâtres. Il se dégage des gaz qui fendent assez vite la gelée. En *strie*, on obtient une bande blanche, plus ou moins opaque, à bords ondulés ou dentés.

Cultures sur gélose. — Il se développe rapidement une culture d'un blanc sale, assez proéminente. Il se produit des gaz qui cassent la gelée et peuvent même la projeter hors du tube; de petites bulles peuvent se voir dans la colonie même. La culture peut être fluide et s'amasser d'elle-même dans le fond du tube placé verticalement.

Ce développement de gaz dans la gélatine et la gélose tient peut-être à la présence d'un peu de sucre provenant des peptones ou de la viande employées.

Cultures sur sérum. — C'est une bande blanchâtre, peu caractéristique.

Cultures sur pomme de terre. — Il se forme, à la surface, des colonies d'un blanc sale ou un peu jaunâtres, qui peuvent rester isolées ou confluer en une couche crémeuse, filante, dans laquelle se produisent souvent des bulles de gaz.

Cultures dans le bouillon. — Le liquide se trouble vite; il se dépose un sédiment épais, filant.

Cultures dans le lait. — Le lait est rapidement coagulé; il s'y produit une forte proportion d'acide lactique en même temps que des gaz se dégagent; la caséine n'est pas modifiée.

Cultures dans les milieux sucrés. — Il se dégage des gaz en abondance et la réaction du milieu devient acide.

Propriétés biologiques. — Produits formés dans les cultures. —

(1) Scheffer, Beiträge zur Frage der Differenzirung des *Bacillus aerogenes* und *Bacillus coli communis* (*Arch. für Hygiene*, XXX, 1897, p. 291).

C'est un agent de fermentation énergique des matières sucrées. Il se forme, comme produits de transformation, des acides, surtout de l'acide lactique normal, un peu d'acide acétique et d'acide formique ; il se dégage de l'acide carbonique et de l'hydrogène (1).

Il décompose le formiate de chaux, pas le lactate ou l'acétate, ce qui indique que l'acide formique trouvé ne représente qu'une forme transitoire des produits de la modification des sucres par le microbe.

Il n'attaque que très peu les albuminoïdes. La réaction de l'indol ne s'obtient jamais. L'urée n'est pas touchée.

Les cultures n'ont pas d'odeur ou une simple odeur de lait aigre.

Virulence. — Considéré d'abord comme simple saprophyte, les recherches de Morelle, de Denys et Brion (2) ont démontré qu'il possédait une action pathogène manifeste.

Les derniers expérimentateurs ont retiré des cultures une substance toxique, précipitable par l'alcool, ne dialysant pas, étant entraînée par les précipités de phosphate de chaux, qu'ils pensent être une toxalbumine. Elle supporte facilement une température de 100° pendant quinze à vingt minutes sans s'altérer ni perdre son activité.

Inoculation expérimentale. — L'injection sous-cutanée de 1 centimètre cube de bouillon de culture ne détermine chez le lapin qu'une petite suppuration locale.

L'injection intrapéritonéale, chez le lapin, le cobaye, la souris, occasionne une mort rapide, en vingt-quatre heures ou moins, dans l'hypothermie. Les lésions rencontrées à l'autopsie sont une péritonite souvent suppurée et une forte inflammation intestinale. On trouve de nombreux microbes dans l'exsudat péritonéal, dans le sang et les organes ; ceux de l'exsudat présentent souvent une sorte de capsule.

La toxine a une action énergique sur les centres nerveux. Chez le lapin, la mort peut survenir avec des symptômes paralytiques, ou on observe des phénomènes convulsifs semblables à ceux déterminés par la strychnine, parfois de véritables convulsions tétaniformes.

De faibles doses déterminent un amaigrissement lent qui aboutit à la cachexie.

Habitat et rôle étiologique. — C'est une espèce fréquente dans les matières fécales. On l'a trouvée dans l'air, le sol, l'eau. Dans ce dernier milieu, elle paraît avoir une signification aussi défavorable que le *Colibacille* ; il y a de grandes présomptions pour croire à une contamination fécaloïde.

C'est réellement un des agents de la coagulation spontanée du lait, mais, comme importance, il cède le pas au *Bacillus lacticus*, le *ferment lactique* de Pasteur (3).

Chez l'homme sain, ce microbe doit contribuer à intervertir le sucre de lait et provoquer son absorption.

(1) Macfadyen, Nencki et Sieber, Untersuchungen über die chemischen Vorgänge im menschschlichen Dündarm (*Arch. für exp. Path.*, XXVIII, 1891).

(2) Denys et Brion, Étude sur le principe toxique du *Bacillus lactis aerogenes* (*La Cellule*, VIII, 1893, p. 305).

(3) Leichmann, Ueber die Beteiligung des *Bacillus lactis aerogenes* an der freiwilligen Säuerung der Milch (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., V, 1899, p. 344, 387 et 440).

Il paraît être l'agent le plus fréquent de l'*infection urinaire*. On doit probablement lui rapporter la *Bactérie septique de la vessie* de Clado, la *Bactérie pyogène* d'Albarran et Hallé (Voy. plus loin : *Bacilles des urines pathologiques*). C'est très probablement lui qui produit, chez les diabétiques, la fermentation intravésicale des urines déterminant des évacuations gazeuses pendant la miction (1).

Il peut aussi jouer un rôle dans les inflammations intestinales des nourrissons.

Recherche et diagnostic. — Le *Bacillus lactis aerogenes* pousse facilement dans les bouillons phéniqués employés pour la recherche du *Colibacille* et du *Bacille typhique*. On se sert surtout, pour le différencier, de son immobilité, de sa décoloration par le Gram, de la coagulation du lait qu'il détermine, de la non-obtention de la réaction de l'indol.

BACILLUS FRIEDLAENDERI.

(*Pneumobacille de Friedlaender.*)

ATLAS DE MICROBIOLOGIE, PL. XIV.

Friedlaender (2) a décrit cette espèce en 1882. Il en faisait l'agent spécifique de la pneumonie fibrineuse. Nous avons vu précédemment (p. 368) que les recherches de Sternberg, Talamon et Fraenkel ont permis de rectifier cette opinion en démontrant que l'agent pathogène véritable de cette affection était le *Micrococcus Pasteuri*, le *Pneumocoque de Talamon-Fraenkel*. Considéré assez longtemps comme un simple saprophyte, commensal fréquent de la muqueuse des voies respiratoires, le *Bacille de Friedlaender* a été reconnu dans ces dernières années comme pouvant produire dans l'organisme des lésions des plus variées, se comportant en vrai microbe à tout faire, comme le dit justement Étienne (3). Nous reviendrons plus loin sur son rôle pathologique.

Morphologie. — Caractères microscopiques. — Ses formes sont assez variables. Parfois, les éléments sont ovalaires, presque semblables à des coccus ; de là vient qu'on a souvent classé ce microbe dans les *Micrococcus* et qu'on lui a donné le nom de *Pneumocoque de Friedlaender*.

Le plus habituellement, il se présente sous forme de bâtonnets courts et trapus à extrémités arrondies, longs de 1 μ en moyenne, avec une largeur un peu moindre, isolés ou le plus souvent réunis par deux, par fois en plus grand nombre, formant de courtes chaînettes. On peut rencontrer des articles plus longs, dépassant 3 μ (fig. 267). Dans les cultures, la forme ovalaire est assez fréquente.

(1) GUIARD, Études cliniques et expérimentales sur la transformation ammoniacale des urines. Thèse de Paris, 1883.

(2) FRIEDLAENDER, Ueber die Schizomyceten bei der acuter fibrinösen Pneumonie (*Virchow's Arch.*, LXXXVI, 1882). — *Id.*, Ueber Pneumonie Mikrokokken (*Fortschr. der Med.*, III, 1885, p. 92). — *Id.*, Die Mikrokokken der Pneumonie (*Fortschr. der Med.*, I, 1883, p. 715).

(3) ÉTIENNE, Le Pneumobacille de Friedlaender ; son rôle en pathologie (*Arch. de méd. expér.*, 1895, p. 124).

Les éléments sont toujours immobiles.

Dans l'organisme, dans le sang, dans les crachats, ils présentent une

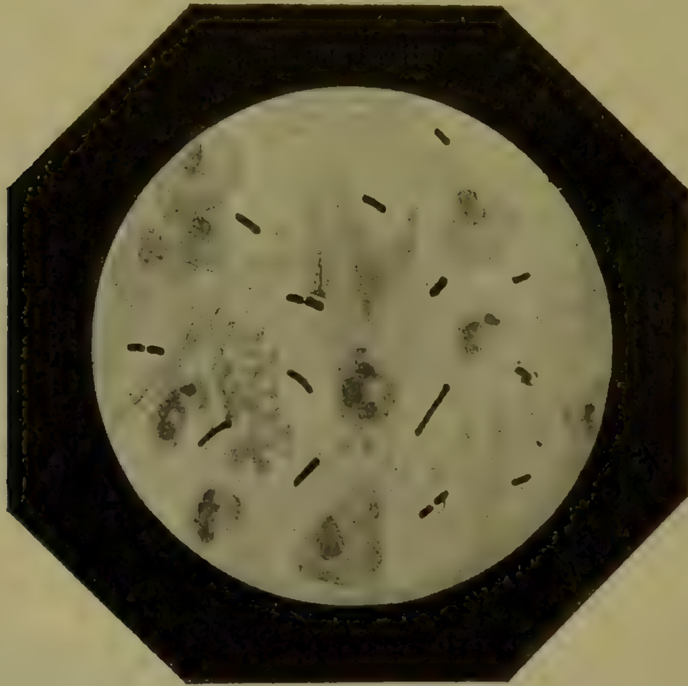


Fig. 267. — *Pneumobacilles* dans les crachats. 1000/1.

capsule très nette, que l'on distingue comme une auréole. Cette capsule résiste aux acides, mais se dissout rapidement dans les alcalis. Elle disparaît, ou presque, dans les cultures; cependant, avec un peu d'attention et de bons objectifs, on la retrouve tout de même, plus réduite, comme un fin liséré brillant autour des éléments. Elle reparaît très nette lorsqu'on fait repasser le microbe dans l'organisme animal.



Fig. 268. — *Bacillus Friedlaenderi*. Culture en piqûre sur gélatine.

Coloration. — Le *Pneumobacille* se colore très facilement aux solutions colorantes habituelles. La capsule se colore par le procédé de Ribbert (p. 370).

Capsules et microbes se *décolorent* toujours par la méthode de Gram, ce qui les différencie facilement du *Pneumocoque*.

Cultures. — Ce microbe se cultive facilement sur tous les milieux et croît bien à partir de 15°. Il paraît être nettement anaérobie facultatif.

Cultures sur plaques de gélatine. — On observe au bout de deux ou trois jours, dans l'intérieur de la gelée, de petites colonies rondes ou ovalaires, granuleuses, à bords nets, de coloration jaunâtre à la lumière transmise. Celles qui atteignent la surface s'y développent en donnant de petits mamelons hémisphériques blanchâtres, à bords nets, d'aspect muqueux; à un faible grossissement, elles sont un peu brunâtres, et n'ont de transparence qu'à leur périphérie. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* dans un tube de gélatine, on voit, après un ou deux jours, se former à la surface une petite colonie blanche qui grandit et donne une masse hémisphérique d'un blanc grisâtre brillant, d'aspect porcelané. Le long du canal, on observe un amas de petites colonies blanches. C'est l'aspect de la culture dite *en clou* (fig. 268).

En *strie*, il se produit une bande opaque d'un blanc grisâtre, à reflets un peu brillants.

Cultures sur gélose. — Bande muqueuse blanc jaunâtre, ne présentant pas de consistance et souvent des reflets brillants.

Cultures sur sérum. — Comme sur gélose, mais la culture est d'ordinaire moins abondante.

Cultures sur pomme de terre. — Le *Pneumobacille* s'y développe très bien. Il y donne une culture épaisse, d'un blanc jaunâtre, parfois un peu brunâtre, humide, visqueuse, dans laquelle se forment, surtout en étuve, des bulles de gaz.

Cultures dans le bouillon. — Le milieu se trouble rapidement ; il se forme, avec le temps, un dépôt muqueux au fond du vase.

Cultures dans le lait. — Il produit d'ordinaire une coagulation lente. Cette coagulation peut cependant ne pas s'observer, même après un long temps. Denys et Martin (1) disent avoir vu tous les *Pneumobacilles* arriver à coaguler le lait après des séries de cultures successives dans ce milieu.

Cultures dans les milieux sucrés. — Il se produit toujours une fermentation et une formation d'acides. On observe un dégagement de gaz, surtout après addition de craie.

Propriétés biologiques. — Vitalité. — Les conditions paraissent semblables à ce qui s'observe pour le *Colibacille*.

Virulence. — La virulence des cultures a été signalée tout au début par Friedlaender.

Produits formés dans les cultures. — Le *Pneumobacille* n'agit pas ou très peu sur les matières albuminoïdes ; on ne constate pas de production d'indol dans les différents milieux.

C'est un agent de fermentation énergique des matières sucrées, comme le montrent les recherches de Denys et Martin, de Frankland (2) et surtout de Grimbert (3). Les produits de la fermentation sont un peu d'alcool éthylique, de l'acide acétique, de l'acide lactique gauche, de l'acide succinique.

La nature et les proportions de ces produits varient suivant la nature de la matière sucrée. Le glucose, le galactose, l'arabinose, la mannite et la glycérine donnent de l'acide lactique gauche à l'exclusion d'acide succinique ; le saccharose, le lactose et le maltose donnent à la fois de l'acide succinique et de l'acide lactique gauche ; la dulcite, la dextrine et les pommes de terre ne produisent que de l'acide succinique sans

(1) Denys et Martin, Sur les rapports du Pneumobacille de Friedlaender, du ferment lactique et de quelques autres organismes avec le *Bacillus lactis aerogenes* et le *Bacillus typhosus* (*La Cellule*, IX, 1893, p. 261).

(2) Frankland, Stanley et Frew, *Journ. of chemical Society*, 1891, p. 253.

(3) Grimbert, Recherches sur le Pneumobacille de Friedlaender, 1er et 2e mémoires (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 840, et X, 1896, p. 708).

traces d'acide lactique. D'après Étienne, la substance glycogène n'est pas attaquée.

Il paraît exister des variantes d'après l'origine du *Pneumobacille* étudié ; certains n'ont pas d'action sur la glycérine ni sur la mannite.

Les gaz qui se dégagent sont de l'acide carbonique et de l'hydrogène.

Au point de vue de l'action sur les sucres, Grimbert divise les *Pneumobacilles* en deux classes. Dans la première, il range ceux qui font fermenter le glucose, l'arabinose, la raffinose, la dextrine, la mannite, le maltose, le saccharose, le galactose, le lactose, la glycérine et la dulcite. Dans la seconde, il place ceux qui font fermenter tous ces sucres, à l'exception de la dulcite. On peut placer dans une troisième le Pneumobacille étudié par Frankland, qui est sans action à la fois sur la glycérine et la dulcite.

Le *Pneumobacille* produit une diastase transformant l'amidon de la pomme de terre en amylo-cellulose, donnant de l'amidon soluble par un chauffage à 100° en présence de l'eau.

Les cultures renferment une substance toxique qui, d'après Denys et Martin, serait voisine de celle produite par le *Bacillus lactis aerogenes*.

Inoculation expérimentale. — Friedlaender a obtenu des résultats positifs constants chez les souris, par l'injection intrapulmonaire de bouillons de culture ou de produits de cultures délayés dans de l'eau. Trente-deux souris ainsi inoculées sont toutes mortes, après avoir présenté des symptômes pulmonaires évidents. A l'autopsie, il trouve les poumons fortement hépatisés ; la cavité pleurale renferme un exsudat louche.

En soumettant les souris à des inhalations d'eau chargée de produits de cultures, tentées au moyen de pulvérisations prolongées, ce même opérateur a pu obtenir un certain nombre de résultats positifs semblables aux précédents.

La *souris* est encore l'animal de choix ; l'inoculation intrapulmonaire de quelques gouttes de culture la tue en deux ou trois jours, avec des lésions pulmonaires. L'injection sous-cutanée d'une forte dose, 1 centimètre cube de culture, la tue parfois en vingt-quatre heures, d'une véritable septicémie.

Le *cobaye* résiste plus que la souris ; sur un lot d'animaux, la moitié au moins survit, les autres meurent avec les mêmes symptômes que ceux observés chez ce dernier animal.

Friedlaender avait donné le *lapin* comme réfractaire. Denys et Martin ont démontré qu'il pouvait succomber au *Pneumobacille* ; ils employaient toutefois des doses considérables de cultures, 10 centimètres cubes par kilogramme d'animal. Roger (1) a prouvé qu'un *Pneumobacille* qui tue la souris et le cobaye a aussi, sur le lapin, une action pathogène manifeste à des doses habituelles. L'inoculation intraveineuse, à la dose de un demi à 1 centimètre cube, amène la mort en vingt-quatre à quarante-huit heures, avec une notable hypertrophie de la rate et des Pneumobacilles encapsulés dans le sang et les organes.

(1) Roger, Action du B. de Friedlaender sur le lapin (*Soc. de Biol.*, 20 janvier 1894).

L'inoculation intrapéritonéale produit les mêmes effets et suscite en outre le développement de fausses membranes fibrineuses agglutinant les intestins et entourant le foie.

Avec des cultures à virulence diminuée, on n'observe plus cette évolution septicémique aiguë, mais une affection à issue plus retardée ou chronique, avec néphrite et albuminurie souvent intense, altération du cœur, symptômes de paralysie.

Le chien est assez peu sensible; dans les expériences de Friedlaender, 1 sur 5 a succombé.

Denys et Martin, en injectant des bouillons de culture stérilisés, ont démontré que ces liquides renfermaient une substance toxique produisant chez le lapin et le chien, en inoculation intrapéritonéale, des symptômes d'abattement et de paralysie, une forte congestion de la muqueuse intestinale, parfois même des hémorragies intestinales, une inflammation du péritoine avec exsudat fibrineux.

Habitat et rôle étiologique. — A l'état normal, on peut le rencontrer sur la muqueuse des voies respiratoires antérieures. D'après Netter (1), on le trouverait dans la proportion de 4,5 p. 100 dans la bouche d'individus sains. On l'a également signalé dans le mucus nasal et le mucus bronchique de personnes bien portantes. Sa présence, dans ces conditions, ne peut comporter aucune signification.

Les recherches de ces dernières années ont démontré qu'il avait chez l'homme une action pathogène réelle, pouvant déterminer des lésions extrêmement variées, rappelant ou non les lésions obtenues expérimentalement chez les animaux par son inoculation, sans qu'aucune puisse toutefois être considérée à juste titre comme spécifique. Ces manifestations pathogènes peuvent se classer, comme le fait Étienne dans le mémoire précité, en manifestations locales, manifestations par extension et manifestations par généralisation.

Dans les manifestations locales se classent les stomatites, les rhinites, des dacryocystites, des ulcérations de la cornée, produites par ce microbe. Il peut se trouver comme hôte normal dans ces différentes régions et devenir pathogène sur place à un moment donné. Il peut produire seul des angines à fausses membranes (2) ; on le trouve assez souvent associé au Bacille de Loeffler dans les fausses membranes diphtériques.

Dans les manifestations par extension, l'action nocive se porte sur des points où il ne se rencontre pas normalement. Il se produit alors des parotidites, otites, péricardites, et surtout broncho-pneumonies et pleurésies à Pneumobacilles. Certaines pneumonies paraissent produites par le *Pneumobacille;* Weichselbaum (3) l'a trouvé 9 fois sur 127 cas. La broncho-pneumonie paraît être sa manifestation pathologique la plus fréquente.

(1) NETTER, Du microbe de Friedlaender dans la salive (*Soc. de Biol.*, 1887). — *Id.*, Présence du B. en capsule de Friedlaender dans l'exsudat de deux pleurésies purulentes; considérations générales sur le rôle pathogène de ce microbe (*Soc. méd. des hôp.*, 1890).

(2) NICOLLE et HÉBERT, Les angines à B. de Friedlaender (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 67).

(3) WEICHSELBAUM, Ueber die Aetiologie der acuten Lungen und Rippenallentzundungen (*Wiener med. Jahrb.*, 1886, p. 483).

Dans les manifestations par généralisation, on peut observer des manifestations pyohémiques et des manifestations septicémiques. Dans le premier cas, on constate des phénomènes de suppuration, la production de véritables phlegmons, de la méningite suppurée. Les septicémies peuvent revêtir le caractère aigu, hémorragique, qu'on observe chez l'animal ; ou se localiser sur certains organes, produisant, par exemple, de l'endocardite, de l'aortite.

Bianchi (1) l'a signalé dans un cas de leucémie, présent en abondance dans l'exsudat pleural, la rate, la moelle des os. Leroy des Barres et Weinberg (2) l'ont reconnu comme cause d'une orchi-épididymite survenue à la suite d'une contusion ; le choc aurait permis à un microbe présent d'acquérir une virulence suffisante pour produire un processus inflammatoire suppuré.

Jacquot (3) l'a rencontré dans une septicémie hémorragique du cheval.

C'est en somme, au point de vue pathologique, une espèce microbienne très répandue et très importante. Beaucoup des microbes décrits comme *Bacilles capsulés*, *Bacillus mucosus capsulatus*, doivent lui être rapportés (4).

C'est encore cette espèce qu'a rencontrée Babès (5) dans la maladie de l'homme qu'il a désignée sous le nom de *septicémie muqueuse*, où les vaisseaux sanguins étaient remplis d'une masse muqueuse, blanchâtre, où les globules rouges s'étaient pour ainsi dire fondus, tandis que les leucocytes restaient intacts ; il proposait pour le microbe trouvé le nom de *Bacillus septicaemiae mucogenae hominis*.

En dehors de l'organisme, le *Pneumobacille* paraît être fréquent dans le milieu extérieur. Emmerich (6) l'a trouvé dans les poussières de l'entrevous des habitations, Jakowsky (7) dans la terre, Uffelmann (8) dans l'air, Mori (9) dans l'eau d'égout, où il le décrit sous le nom de *Bacillus capsulatus*. D'après Grimbert (10), il se rencontrerait souvent dans l'eau ; comme il pousse dans les milieux phéniqués comme le *Colibacille* et qu'il présente une assez grande ressemblance dans ses formes de cultures avec ce dernier microbe, il a dû bien des fois être pris pour lui dans les analyses bactériologiques d'eau.

Recherche et diagnostic. — Dans l'organisme, la présence de la capsule, la forme des éléments, le font facilement reconnaître. La déco-

(1) Bianchi, Bactériologie d'un cas de leucémie aiguë (*Riforma medica*, 1899, n° 81).

(2) Leroy des Barres et Weinberg, Orchi-épididymite à diplobacille de Friedlaender (*Soc. de Biol.*, 21 mai 1898).

(3) Jacquot, *Recueil de méd. vét.*, 1897, n° 12, p. 288.

(4) Fricke, Ueber den sogenannten *Bacillus mucosus capsulatus* (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIII, 1896, p. 380).

(5) Babès, La septicémie muqueuse (*Acad. de méd.*, 16 février 1897).

(6) Emmerich, Pneumonie-Kokken in der Zwischen-Deckenfüllung als Ursache einer Pneumonie-Epidemie (*Fortschr. der Med.*, 1884).

(7) Jakowsky, *Gazetta lakarska*, 1888.

(8) Uffelmann, Friedlaenders Pneumoniebacillus gefunden in der Luft einer Kellerraum (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1887, p. 726).

(9) Mori, Ueber die pathogenen Bakterien des Kanalisationswassers (*Zeitschr. für Hygiene*, IV, 1888, p. 47).

(10) Grimbert, Recherches sur le Pneumobacille de Friedlaender, 2e mémoire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 708).

loration par la méthode de Gram permet de le distinguer vite et sûrement du Pneumocoque.

Sur les Pneumobacilles isolés d'autres milieux, on peut encore apercevoir la capsule. De plus, l'essai sur la souris permet de la faire réapparaître et confirme le diagnostic.

Les microbes décrits sous le nom de *Proteus hominis capsulatus* par Bordoni-Uffreduzzi (1), sous celui de *Proteus capsulatus septicus* par Banti (2), sous celui de *Kapselbacillus* par Nicolaier (3), paraissent ne pouvoir guère être distingués du *Pneumobacille*. Toutefois, ils résisteraient en partie à la décoloration par la méthode de Gram.

Le *Bacille du rhinosclérome*, le *Bacille de l'ozène* sont aussi bien voisins ou même peut-être identiques; leurs caractères seront donnés plus loin.

Une grande partie des autres microbes décrits sous le nom générique de *Bacilles capsulés* sont bien voisins du *Pneumobacille*. On peut certainement les considérer comme des variétés de cette espèce qui présente, on le reconnaît facilement, une très grande variabilité dans ses caractères. Le caractère qui paraît ici dominer, c'est la présence d'une capsule bien évidente, souvent très développée, ou, ce qui n'est qu'une exagération de cette formation, la présence d'une matière muqueuse en général abondante qui provient de la diffluence marquée de la partie constituant la capsule. Le nom de *Bacillus mucosus capsulatus* est souvent appliqué à de tels types. On trouvera dans un travail de Fricke (4) les renseignements comparatifs concernant un grand nombre de ces types, qui, pour la plupart, se laissent nettement rattacher au *Pneumobacille*; d'autres se rapprochent peut-être plutôt du *Bacillus lactis aerogenes* qui peut aussi se présenter capsulé, ou de certaines variétés du *Colibacille* auquel on reconnaît cette propriété dans certaines circonstances (5). Le *Bacillus capsulatus* de Pfeiffer (6), le *Bacillus aerogenes sputigenus capsulatus* de Herla (7), seraient plutôt à rapprocher du *Bacillus lactis aerogenes*.

BACILLE DE LA PSITTACOSE.

Nocard avait, en 1892, signalé, dans la moelle osseuse de perruches ou de perroquets morts d'une maladie nettement infectieuse, la présence d'un Bacille qui lui paraissait être la cause de l'infection. Gilbert et Fournier (8) ont retrouvé ce microbe dans les mêmes conditions et

(1) Bordoni-Uffreduzzi, Ueber den Proteus hominis capsulatus (*Zeitschr. für Hygiene*, II, p. 333).

(2) Banti, Sopra quattro nuove specie di protei o bacilli capsulati (*Lo Sperimentale*, 1888). — Foa et Bonome, Sulla biologia del Proteo capsulato (*Accad. di Medicina*, 1888).

(3) Nicolaier, Ueber einen neuen pathogenen Kapselbacillus bei eitriger Nephritis (*Centralbl. für Bakt.*, XVI, 1894, p. 601).

(4) Fricke, Ueber den Sogenannten *Bacillus mucosus capsulatus* (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIII, 1896, p. 380).

(5) Wilde, Ueber den Bacillus pneumoniae Friedlaender und verwandte Bakterien. Thèse de Bonn, 1896.

(6) R. Pfeiffer, Ueber einen neuen Kapselbacillus (*Zeitschr. für Hygiene*, VI, 1889, p. 145).

(7) Herla, Sur un nouveau Bacille capsulé (*Arch. de Biol.*, XIV, 1895, p. 403).

(8) Gilbert et Fournier, De la Psittacose (*Acad. de méd.*, 20 octobre 1896).

ont démontré qu'il était l'agent pathogène d'une affection de l'homme, à lui transmise par les oiseaux atteints, affection qu'ils proposent de nommer *psittacose*.

D'autres observations, en particulier celles de Sicard (1) et de Nicolle (2), ont confirmé cette opinion et ont démontré le danger et la fréquence assez grande de cette transmission de l'oiseau à l'homme (3).

Nous avons vu qu'Eberth et Wolff (p. 408) avaient décrit, sous le nom de *Micrococcus psittaci*, un microbe déterminant une affection septicémique des perroquets. Il est possible que ces auteurs se soient mépris sur la vraie forme du microbe et que la mycose qu'ils ont décrite soit bien la psittacose actuelle.

Morphologie. — Le *Bacille de la psittacose* est une Bactérie courte, assez épaisse, à extrémités arrondies. Les éléments sont très mobiles et munis de huit à douze cils délicats et fragiles. Ils ne produisent pas de spores.

La coloration s'obtient facilement avec les procédés habituels. Le microbe se *décolore* toujours par la méthode de Gram.

On obtient facilement des cultures sur les milieux ordinaires, en présence d'air ou sans air.

Sur *gélatine*, il se forme une culture d'abord transparente, irisée, puis plus épaisse, blanche, crémeuse. La gelée n'est pas liquéfiée.

Sur *gélose*, la culture est plus épaisse, blanchâtre, opaque.

Sur *pomme de terre*, la culture est assez épaisse, brunâtre, ressemblant beaucoup à celle du *Colibacille*.

Dans le *bouillon*, on observe un trouble rapide ; il se forme à la surface un voile délicat et fragile.

Le *lait* n'est pas coagulé.

Propriétés biologiques. — Le *Bacille de la psittacose* est sans action sur les sucres, le lactose en particulier. Il ne produit pas d'indol dans les milieux peptonisés.

Inoculation expérimentale. — Le microbe se montre pathogène pour le perroquet, la perruche, le pigeon, la poule, la souris, le lapin, le cobaye ; ce dernier paraît assez résistant.

L'inoculation sous-cutanée ou intramusculaire donne des résultats inconstants ; la mort est rapide ou tarde ; alors l'animal prend une diarrhée profuse et maigrit beaucoup. L'inoculation intraveineuse, intrapéritonéale ou intratrachéale, tue en moins de quarante-huit heures.

Chez les oiseaux, les symptômes produits sont assez semblables à ceux du choléra des poules à forme lente. L'animal se tient en boule, a les plumes hérissées, les ailes tombantes, les yeux clos ; il a une diarrhée liquide, parfois sanguinolente ; il ne mange plus et reste en somnolence jusqu'à sa mort. A l'autopsie, on trouve une congestion très

(1) Sicard, Épidémie de psittacose. Recherches bactériologiques (*Soc. de Biol.*, 31 juillet 1897).

(2) Nicolle, Une épidémie de psittacose. Histoire clinique et recherches bactériologiques (*Arch. prov. de méd.*, I, 1899, p. 62).

(3) Dupuy, De la psittacose au point de vue bactériologique. Revue générale (*Progrès méd.*, 1897).

intense des organes abdominaux. Le sang du cœur, la rate, la moelle osseuse, le contenu de l'intestin, renferment en abondance le microbe spécial.

Habitat et rôle étiologique. — La psittacose est assez fréquente chez les perroquets et les perruches importés. Il faudrait peut-être aussi la tenir pour transmissible à d'autres oiseaux exotiques. D'un autre côté, c'est une affection bien voisine sinon identique que Tartakowsky (1) a observée chez des petits oiseaux de nos pays.

Toutes les parties de l'organisme des oiseaux atteints sont virulentes; les déjections le sont à un haut point. Nocard a montré qu'il suffisait de déposer des ailes sèches, provenant d'oiseaux atteints, au fond de la cage d'une perruche saine pour la voir périr en moins de vingt jours.

La transmission à l'homme est indéniable. Elle cause une infection grave, souvent mortelle. La maladie peut prendre les allures d'une fièvre typhoïde. Le plus souvent elle revêt la forme pneumonique, pouvant alors présenter beaucoup d'analogies avec l'infection grippale. Il peut se produire des formes légères, où se remarquent surtout des courbatures et de la diarrhée.

La contagion se fait le plus souvent par contact direct avec les oiseaux malades; elle peut se faire aussi par les plumes, par des objets quelconques souillés.

Recherche et diagnostic. — Avec les animaux atteints de psittacose, on obtient facilement des cultures du microbe. Chez l'homme, Gilbert et Fournier seuls sont parvenus à l'isoler du sang du cœur.

Les caractères sont voisins de ceux du *Bacille typhique* et du *Colibacille.*

On distingue ce microbe du *Bacille typhique* à l'aide de la culture sur pomme de terre, des cultures raclées de *Bacille typhique* où il pousse bien, et de la différence d'agglutination par le sérum typhique avec lequel l'agglutination est toujours minime.

Le sérum des malades atteints de psittacose ne donne pas des résultats très nets sur le *Bacille de la psittacose* ; l'agglutination ne se produit qu'à un taux assez élevé, 1 pour 50 ou moins, alors que le sérum humain normal est agglutinant à 1 pour 20 et au-dessus. Le *sérodiagnostic* est donc possible, mais reste souvent incertain.

BACILLUS ENTERIDITIS Gaertner.

Gaertner (2) a trouvé cette espèce dans de la viande malade dont l'ingestion avait été cause d'accidents graves.

Cette viande provenait d'une vache qui avait été prise d'une diarrhée muqueuse; on l'avait abattue dans cet état. A l'inspection, la rate et le foie n'étaient nullement hypertrophiés; par contre, l'intestin grêle présentait par endroits des taches rougeâtres. La viande avait l'aspect normal, fut déclarée propre à la consommation et livrée deux jours après.

(1) Tartakowsky, Sur une maladie infectieuse des Becs courbés et autres oiseaux de volière (*Arch. der Veterinärwissenschaften*, mai 1898).

(2) Gaertner, Ueber die Fleischvergiftung in Frankenhausen und den Erreger derselben (*Correspondenzbl. des allg. Aertz. Vereins von Thüringen*, 1888).

Cinquante-huit personnes mangèrent de cette viande crue, simplement assaisonnée, et furent malades; une seule mourut, un jeune homme très robuste qui en avait consommé à lui seul 800 grammes. Beaucoup d'autres personnes, qui avaient consommé de cette viande cuite, furent tout à fait indemnes.

Dans le cas fatal, les accidents apparurent deux heures après l'ingestion de la viande ; ils débutèrent par des vomissements et de la diarrhée. La mort survint après trente-six heures. L'intestin grêle était très irrité ; la muqueuse était fortement injectée par places ; les plaques de Peyer étaient tuméfiées; la partie supérieure seule renfermait des fèces d'un vert jaune, le reste était vide. Les autres malades présentèrent les mêmes symptômes, mais moins intenses.

Gaertner put isoler une même Bactérie de différentes portions de viande qui n'avait pas été consommée et de la rate de l'homme qui avait succombé.

Ses cultures se développent facilement sur les milieux habituels.

Sur *plaques de gélatine*, ce sont de petites colonies rondes, grisâtres, granuleuses, transparentes, à bords nets, se teignant en jaune au centre à la longue; la gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur *gélatine en piqûre*, il se forme à la surface une colonie épaisse, d'un blanc grisâtre, qui s'affaisse en peu de temps et donne une pellicule grise fortement ridée. Dans le canal, la culture se limite à la piqûre. Les vieilles se colorent souvent en brun dans la partie inférieure. On n'observe pas de liquéfaction. A l'abri de l'air, la croissance est très minime.

Sur *gélose* à 35°, la croissance est très rapide; en dix-huit heures toute la surface est recouverte d'une culture gris jaunâtre. Il en est de même sur sérum, où la culture est plus grise.

Sur *pomme de terre*, la culture gris jaunâtre est humide, brillante.

Le *lait* est rapidement coagulé.

Les cultures ne donnent pas la réaction de l'indol.

Les Bactéries de ces cultures sont de courts bâtonnets dont la longueur est double de la largeur, souvent réunis par deux, plus rarement par trois ou plus; ils sont agglutinés par une substance muqueuse qui forme autour d'eux une sorte d'auréole. Ils sont mobiles ; le mouvement peut cesser par moments, puis reprendre. Ils prennent assez difficilement la couleur, et plus aux deux extrémités, le centre restant souvent incolore; ils se *décolorent* par la méthode de Gram. Dans le bouillon et dans les vieilles cultures, on trouve des éléments ovales.

Les cultures, en injections sous-cutanées ou intrapéritonéales, sont virulentes pour les souris, les lapins et les cobayes, qu'elles tuent, suivant leur résistance, en quelques jours ou quelques heures. A l'autopsie, les symptômes sont toujours les mêmes : gonflement et rougeur de la muqueuse intestinale, injection des vaisseaux, petites hémorragies dans la muqueuse, plus rarement dans la plèvre ou le péricarde; on n'observe jamais de gonflement de la rate. On retrouve de nombreuses Bactéries dans le sang.

Par absorption intestinale, en mélange avec les aliments, les souris blanches seules périssent avec les mêmes symptômes. Une chèvre prit une forte diarrhée dont elle guérit, puis périt à la suite d'une injection intraveineuse de produit de culture.

Les chiens et les chats résistèrent parfaitement à l'ingestion de fortes proportions de la viande malade.

De trois pigeons qui reçurent chacun deux injections dans les muscles pectoraux, l'un mourut le lendemain; les deux autres furent malades, mais purent se remettre; l'un d'eux mourut six semaines après. Dans la masse musculaire pectorale se trouvait un gros séquestre qui contenait encore à un endroit des Bacilles vivants. Les poules inoculées de la même manière restèrent tout à fait saines.

Les cultures stérilisées ont encore une action nocive manifeste, due à des substances solubles produites par la Bactérie.

Karlinski (1) a retrouvé cette même espèce dans des circonstances analogues, dans une intoxication grave occasionnée par l'ingestion de viande séchée. Les selles des malades lui donnèrent facilement des cultures du Bacille de Gaertner. D'après lui, cette espèce serait largement répandue dans la nature; il l'aurait obtenue du contenu normal du duodénum d'un suicidé et de celui d'une jeune chèvre tout à fait saine.

D'autres auteurs ont décrit, dans les mêmes conditions, empoisonnements par les viandes fraîches ou conservées, des Bactéries qui paraissent bien semblables au Bacille de Gaertner et sont peut-être même à identifier avec lui.

Gaffky et Paak (2) ont isolé de saucissons faits avec de la viande ou du foie de cheval, qui avaient occasionné, à Röhrsdorf et dans les villages environnants, des accidents d'intoxication désignés depuis longtemps sous le nom de *botulisme*, une Bactérie qui leur a semblé être la cause des accidents et qui leur a permis, du reste, de reproduire la plupart des symptômes présentés par les malades sur les animaux d'expérience.

Quatre-vingts personnes avaient été plus ou moins malades; une avait succombé, un homme vigoureux. Toutes étaient des ouvriers de fabriques s'étant approvisionnés à la même boucherie chevaline. L'incubation avait été courte, de moins de vingt-quatre heures dans bien des cas. Les symptômes étaient une gastro-entérite violente et une forte fièvre; pas d'exanthème ni de troubles visuels. L'individu qui est mort a succombé six jours après avoir mangé de la viande en question.

On n'a pu avoir aucun renseignement sur l'animal et décider, par conséquent, si le virus provenait d'une infection dont il était atteint avant l'abatage ou s'était développé dans les tissus après la mort.

Des lapins, des cobayes, des souris, ont succombé à la suite d'ingestion de parties des saucissons incriminés ou d'inoculations sous-cutanées de l'émulsion obtenue en triturant avec de l'eau des morceaux de ces saucissons. L'examen des organes y a fait découvrir constamment une Bactérie qui a paru spéciale aux expérimentateurs.

Les éléments sont des bâtonnets assez mobiles, un peu plus petits

(1) Karlinski, Zur Kenntniss des Bacillus enteriditis Gaertner (*Centralbl. für Bakt.*, VI, 1889, p. 269).

(2) Gaffky et Paak, Ein Beitrag zur Frage der sogenannten Wurst und Fleischvergiftungen (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, VI, 1890, p. 159).

que le *Bacille typhique*, s'allongeant parfois en filaments. Ils se colorent difficilement et se *décolorent* toujours par la méthode de Gram. Ils n'ont pas paru produire de spores.

Les cultures poussent facilement sur les milieux habituels.

En cultures *sur plaques de gélatine*, on obtient des colonies qui rappellent beaucoup celles du *Bacille typhique*, à l'œil nu ; à un faible grossissement, elles ont les bords plus nets et un aspect muqueux, elles montrent parfois des séries d'anneaux concentriques. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur *gélatine en piqûre*, il se forme une petite culture blanchâtre dans le canal, et à la surface une couche grisâtre, mince, transparente, qui peut s'étendre jusqu'aux parois du tube.

Sur *gélose* et sur *sérum*, il se produit une couche d'un blanc grisâtre, plus muqueuse que sur gélatine.

Le *bouillon* est troublé en moins de vingt-quatre heures ; peu à peu il se dépose un sédiment blanchâtre, léger.

Sur *pomme de terre*, la culture est peu abondante, souvent difficile à apercevoir, comme celle du *Bacille typhique*. D'autres fois, la culture est plus épaisse, muqueuse, grisâtre ou même jaunâtre.

Le *lait* n'est pas coagulé, ce qui peut différencier cette espèce du *Bacillus enteritidis*.

Les cultures ne donnent jamais la réaction de l'indol.

Le microbe jouit de propriétés pathogènes manifestes à l'égard de la plupart des animaux d'expérience.

Les souris, les cobayes, les lapins, périssent rapidement à la suite d'injections intraveineuses ou intra-oculaires de bouillons de cultures ; plus lentement en injections sous-cutanées.

Les souris, les cobayes, les singes prennent la même maladie par ingestion de cultures mélangées aux aliments ; les chiens, les jeunes chats et les lapins plus difficilement que les premiers animaux ; les porcs pas du tout.

Le symptôme le plus marqué, avec les deux dernières manières de faire, est une forte diarrhée, avec de très nombreux Bacilles dans les selles liquides. A l'autopsie, on trouve toujours des Bacilles partout. Ces Bacilles forment de gros amas dans les organes et remplissent souvent les capillaires ; ceux du sang sont isolés. On peut trouver des abcès dans la rate. L'intestin est fortement hypérémié.

Van Ermenghem (1) attribue à une Bactérie à caractères bien voisins une épidémie d'entérite cholériforme qui a éclaté en 1893 dans le village flamand de Morseele, due, d'après lui, à l'ingestion de viande de deux veaux atteints d'entérite infectieuse au moment de l'abatage. Cette Bactérie serait la cause de l'*entérite infectieuse des veaux* et ne différerait que bien peu du *Bacillus enteritidis*, du microbe de la peste porcine et de celui du Hog-Choléra.

Quatre-vingts individus furent malades ; quatre succombèrent. Les principaux symptômes présentés étaient une forte gastro-entérite, beaucoup de fièvre, des exanthèmes cutanés dans les cas graves, et chez les enfants des crampes et des troubles visuels.

(1) Van Ermenghem, Recherches sur les empoisonnements produits par de la viande de veau à Morseele (*Bull. de l'Acad. royale de Belgique*, 1892).

Le microbe est en bâtonnets très mobiles de 0,6 à 1,5 μ de long, d'une épaisseur deux à trois fois moindre, possédant de quatre à douze cils vibratiles, ne montrant jamais de spores. Ils se *décolorent* par la méthode de Gram.

Les caractères des cultures rappellent beaucoup ceux du *Colibacille*. Toutefois, le lait n'est pas coagulé et on ne constate pas la réaction de l'indol. Il y a un dégagement abondant de gaz dans les milieux additionnés de saccharose, de glucose ou de lactose.

Les souris et les lapins s'infectent facilement en ingérant des cultures mélangées aux aliments ou après inoculation ; ils meurent après avoir pris une gastro-entérite aiguë. Les chiens et les chats ne manifestent rien.

Les cultures stérilisées déterminent, par ingestion ou inoculation, des symptômes d'entérite, des convulsions, des paralysies.

C'est ce même microbe qui a été reconnu par Kaentsche (1) comme cause d'une *intoxication alimentaire* observée à Breslau, due à l'ingestion de la viande d'une vache malade. Quatre-vingts personnes tombèrent malades, la plupart vingt-quatre heures après avoir mangé de la viande en question. Les symptômes étaient ceux d'une gastro-entérite violente avec forte fièvre. Personne ne succomba.

Il en est de même des intoxications observées par Holst (2) à l'asile d'aliénés de Gaustand, près Christiania, où quatre-vingt-un individus furent malades et quatre moururent. Les accidents ont été aussi rapportés à l'usage de la viande d'un veau qui avait paru sain au moment de l'abatage, mais avait présenté de la diarrhée quelques jours avant.

Herman (3), Barker et Robertson (4), Durham (5) rapportent un assez grand nombre d'intoxications dues à la présence du *Bacillus enteriditis* dans des viandes ou des pâtés fabriqués avec ces viandes de bœuf ou de veaux atteints de diarrhée au moment de l'abatage. Les empoisonnements rapportés par Pouchet (6) et attribués par lui au *Bacille de la pneumo-entérite du porc*, pourraient également bien provenir du même microbe.

Les animaux le plus souvent incriminés sont les bovidés, surtout le veau ; le porc a été mis en cause plusieurs fois ; il semble aussi que l'on doive incriminer le cheval et la chèvre, pas le mouton jusqu'ici.

Lubarsch (7) a rencontré le *Bacillus enteriditis* en abondance chez un enfant nouveau-né mort de pneumonie septique ; il le considère sans aucun doute comme la cause de l'infection.

(1) Kaentsche, Zur Kenntniss der Krankheitserreger bei Fleischvergiftungen (*Zeitschr. für Hygiene*, XXII, 1896, p. 53).

(2) Holst, *Centralbl. für Bakt.*, XVII, 1895, p. 717.

(3) Herman, L'intoxication carnée de Sérault, Hainaut (*Arch. de méd. expér.*, juillet 1899).

(4) Barker et Robertson, *British med. Journ.*, 11 novembre 1899.

(5) Durham, An adress on the present knowledge of onthreaks due to meat poisoning (*Brit. med. Journ.*, 17 décembre 1898).

(6) Pouchet, Bactériologie appliquée à la médecine légale (*Ann. d'hygiène*, mars 1897, p. 209).

(7) Lubarsch, Ein Fall von septischer Pneumonie beim Neugeborenen, verursacht durch Bacillus enteriditis (*Virchow's Archiv*, CXXIII, 1891, p. 70).

C'est également ici que doit se placer la Bactérie isolée par Vaughan et Perkins (1) de crème glacée et de fromage ayant occasionné des accidents toxiques. Elle est très semblable aux précédentes, ne donne pas d'indol dans les cultures, mais produit rapidement la coagulation du lait.

Tous ces microbes paraissent bien voisins du *Bacillus coli communis*. Il n'est cependant pas possible actuellement de les identifier à lui à cause de certains caractères qui semblent différentiels, l'absence de coagulation du lait et le manque de réaction de l'indol, que nous savons toutefois pouvoir faire défaut chez certains types de *Colibacille*. On doit cependant reconnaître qu'ils présentent de très grandes affinités avec cette espèce, dont ils pourraient, peut-être, n'être que de simples variétés ayant définitivement acquis des caractères qui ne se présentent que comme transitoires dans l'espèce type. Ils ont aussi bien des points de ressemblance avec le *Bacillus lactis aerogenes*, avec le *Bacille de la psittacose*, etc.

BACILLE DE LA DIARRHÉE DES VEAUX Jensen.

Jensen (2) décrit comme agent spécifique de cette affection un microbe très voisin du *Colibacille* et présentant certains rapports avec la *Bactérie ovoïde* des septicémies hémorragiques.

C'est un petit Bacille ovalaire, à espace clair central, mobile, mesurant de 1 à 2 μ de longueur, isolé ou associé en courtes chaînes. Dans les cultures très jeunes, on trouve surtout des formes courtes, presque rondes ; dans les cultures âgées, des formes plus longues.

Il se colore facilement aux couleurs d'aniline et se *décolore* par la méthode de Gram.

On le rencontre dans le sang, les centres nerveux, tous les parenchymes, le contenu du tube digestif des veaux atteints.

Sur *gélatine*, on obtient, en un jour, de petites colonies blanches, à bords ondulés. En piqûre, il se développe des bulles de gaz le long du trajet. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Le *bouillon* se trouble vite, puis abandonne un dépôt pulvérulent.

Sur *gélose* et sur *sérum*, la culture est assez épaisse, d'un blanc grisâtre.

Le *lait* est coagulé.

Sur *pomme de terre*, il se forme une mince couche blanc rosé.

Toutes les cultures répandent une odeur fétide caractéristique.

Le microbe est pathogène pour le veau, le cobaye et la souris blanche.

D'après Jensen, le même Bacille se retrouverait dans l'intestin des veaux sains ; il ne deviendrait pathogène que sous certaines conditions exaltant sa virulence en diminuant la résistance de l'animal. Il le donne en plus comme abondamment répandu dans les étables infectées. Tous ses caractères le rapprochent beaucoup du *Colibacille*.

(1) Vaughan et Perkins, Ein in Eiscreme und Käse gefundener giftproducirender Bacillus (*Arch. für Hygiene*, XXVII, 1896, p. 308).

(2) Jensen, Ueber die Kälberruhr und deren Aetiologie (*Monatsh. für Thierheilkunde*, IV, 1893, p. 97). — Piana et Galli-Valerio, Eziologia della diarrhea dei vitelli neonati (*Ann. di agricolt.* 1896). — Reindl, Seuchenhafte Kälberruhr (*Berlin. thierarztl. Wochenschr.*, 1896, p. 401).

BACILLE DE LA SEPTICÉMIE DES VEAUX Thomassen.

Thomassen (1) a rencontré un Bacille très voisin du *Bacille typhique* et du *Colibacille* dans une affection septicémique, très meurtrière, sévissant sur les veaux en Hollande.

Le microbe se rencontre en abondance dans le sang, le suc du foie et de la rate, qui donnent facilement des cultures.

C'est un court bâtonnet, à extrémités arrondies, peu mobile, présentant les caractères des deux espèces qui viennent d'être citées.

Il se colore facilement aux couleurs d'aniline et se décolore par la méthode de Gram.

Les cultures sur *gélatine* et *gélose* n'ont rien de particulier.

La *culture sur pomme de terre* est semblable à celle du *Bacille typhique*, une simple surface humide.

Dans le *bouillon*, il se fait un trouble uniforme, puis la surface se recouvre d'un voile qui s'épaissit vite et devient blanc, visqueux, adhérent au vase.

Le *lait* n'est pas coagulé, bien qu'on y rencontre, en peu de temps, beaucoup de microbes.

Dans les *milieux glucosés*, il se produit une légère fermentation avec production d'un peu d'acide qui rougit le tournesol, si on en a ajouté d'avance.

Les bouillons peptonisés donnent faiblement la réaction de l'indol.

Le sérum typhique agglutine nettement le microbe, mais beaucoup moins énergiquement que le *Bacille typhique*.

Le microbe est pathogène pour la souris, le rat, le cobaye, le lapin et le veau.

Les animaux souffrent rapidement, maigrissent, prennent souvent de la diarrhée et meurent avec des symptômes de septicémie.

BACILLES DE LA DYSENTERIE.

L'étiologie de la dysenterie paraît être une question des plus complexes. A part certaines dysenteries mécaniques ou toxiques, les autres manifestations que l'on range sous cette rubrique, peut-être trop générale, semblent manifestement être d'origine parasitaire, microbienne. Un de leurs caractères évidents est d'être contagieuses, souvent même véritablement épidémiques.

Bien des chercheurs ont étudié ces affections ; la plupart ont réussi à y rencontrer des agents différents qu'ils considèrent tour à tour comme spécifiques. Certains ne sont autres que des espèces connues, comme le *Colibacille*, des *Streptocoques*, des *Staphylocoques*, le *Bacille pyocyanique* (2), le *Proteus vulgaris*, de telle sorte qu'on peut penser que de tels microbes n'interviennent ici que secondairement, ou bien que les processus dysentériques peuvent être occasionnés pour ainsi dire par des espèces microbiennes banales, acquérant à un moment

(1) Thomassen, Une nouvelle septicémie des veaux avec néphrite et urocystite (bactériurie) consécutives (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 523).

(2) Cartigan, A contribution to the study of the pathogenesis of the Bacillus pyocyaneus with special reference to its relation to an epidemic dysentery (*Journ. of exper. med.*, VIII, 1898, n° 6).

donné une activité plus grande. D'autres paraissent plus spécifiques, et celles-là sont encore sous la dépendance d'agents divers. On est donc conduit à admettre qu'il y a plusieurs agents pathogènes capables de produire les affections dysentériques; il est toutefois encore difficile de se prononcer d'une façon sûre, les assertions des uns étant infirmées par les résultats contraires d'autres. On trouvera dans un mémoire de Janowski (1) l'exposé de la plupart des travaux faits sur ce sujet.

Pour résumer, on peut penser qu'il existe des *dysenteries amoebiennes*, produites par la pullulation dans l'intestin d'une ou plutôt de plusieurs espèces d'Amibes dont le type est l'ancienne espèce *Amoeba coli* de Loesch, et des *dysenteries bacillaires*, les seules qui nous occuperont ici. Dans ces dernières, on a décrit plusieurs espèces bactériennes qui sont considérées, suivant le cas, comme spécifiques; cependant certaines recherches (2) tendent de plus en plus à donner ici le rôle principal, sinon exclusif, au *Colibacille* ayant acquis une vitalité et une virulence spéciales, dont certains même veulent faire une espèce particulière sous le nom de *Bacterium coli dysentericum* (3).

Il est assurément important de connaître les principales formes rencontrées.

Chantemesse et Widal (4) ont obtenu, dans cinq cas de dysenterie contractée dans les pays chauds, un Bacille particulier qu'ils considèrent comme l'agent spécifique de cette affection. Ce Bacille se rencontre dans les matières fécales pendant la vie, dans les parois de l'intestin, dans les ganglions mésentériques, dans la rate. Les éléments sont de courts bâtonnets, peu mobiles, à extrémités arrondies; très fins dans l'organisme, ils deviennent un peu plus épais dans les cultures. Ils se colorent mal aux couleurs d'aniline. Des spores n'ont pas été observées jusqu'ici.

En cultures sur plaques de gélatine, les colonies ont un aspect bien caractéristique. Tout au début, lorsqu'elles sont encore punctiformes à l'œil nu, ce sont de petites taches claires. Plus tard, elles prennent une teinte jaunâtre et paraissent constituées par la réunion de deux cercles concentriques de teinte différente: l'intérieur est plus foncé et son contour un peu accidenté; l'extérieur est plus clair, à bords nets. Puis elles perdent leur coloration jaunâtre pour devenir granuleuses, blanchâtres. Le diamètre ne dépasse pas celui d'une lentille. La gélatine n'est pas liquéfiée.

La culture se fait bien sur tous les milieux; l'espèce paraît être peu exigeante au point de vue nutritif, car elle se multiplie abondamment dans l'eau de Seine stérilisée. En piqûre dans un tube de gélatine, il se forme, à la surface, une mince pellicule blanchâtre, qui n'atteint pas les parois du verre. Sur pomme de terre, on obtient une membrane jaunâtre, sèche.

(1) Janowski, Zur Aetiologie der Dysenterie (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 88, 151, 194, 234, avec une bonne bibliographie p. 252).

(2) Arnaud, Recherches sur l'étiologie de la dysenterie aiguë des pays chauds (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 495).

(3) Ciechanowski et Howak, Zur Aetiologie der Dysenterie (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 445 et 493).

(4) Chantemesse et Widal, Le microbe de la dysenterie épidémique (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 17 avril 1888).

Des cobayes, aux aliments desquels on mêle du produit de cultures, montrent, au bout de huit jours, une vive inflammation intestinale. L'injection péritonéale les fait périr en deux ou trois jours avec péritonite, péricardite et pleurésie fibrineuses, dans l'exsudat desquelles se trouve en abondance la Bactérie. Par inoculation intestinale, les résultats sont encore plus évidents. En sacrifiant après une huitaine de jours les animaux opérés, on trouve la muqueuse gonflée, ecchymosée, ulcérée; le tissu est infiltré de Bacilles, qui y forment souvent de gros amas. L'examen microscopique et les cultures révèlent la présence du Bacille particulier.

Les caractères de ce microbe sont bien voisins de ceux du *Colibacille* avec lequel beaucoup l'identifient.

Shiga (1) décrit sous le nom de *Bacillus dysenteriae* un microbe voisin du *Colibacille*, qu'il a rencontré au Japon, pendant une épidémie de dysenterie très meurtrière, puisqu'elle a occasionné une mortalité de 24 p. 100 et aurait atteint près de 90 000 individus, chez trente-quatre malades sur trente-six qu'il a pu examiner.

Ce microbe se trouvait en abondance dans les selles et dans les parois intestinales chez deux individus ayant succombé.

C'est un court bâtonnet à extrémités arrondies, très semblable d'aspect au *Bacille typhique* et au *Colibacille*, isolé ou réuni par paires, médiocrement mobile, ne donnant pas de spores.

Il se colore facilement aux couleurs habituelles, surtout aux deux extrémités. Il se *décolore* par la méthode de Gram. Des cils n'ont pas pu être mis en évidence.

Il vient facilement en cultures, surtout sur les milieux bien alcalins Il croît à la température ordinaire et mieux à l'étuve.

Sur *plaques de gélatine*, les colonies sont d'abord petites, arrondies, légèrement jaunâtres et finement granuleuses. Elles grandissent un peu; le milieu devient plus sombre et la zone périphérique plus claire. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur *gélatine en piqûre*, il se fait une petite traînée blanchâtre dans le canal, jamais de liquéfaction.

Sur *gélose*, il se développe une colonie blanchâtre, un peu transpa rente, irisée. En piqûre, il ne s'y forme jamais de gaz, même après addition de glucose.

Sur *sérum coagulé*, même aspect, pas de liquéfaction du milieu.

Sur *pomme de terre*, après vingt-quatre heures on ne voit qu'une très minime culture blanchâtre; après deux jours, c'est une pellicule jaune brunâtre, brillante; après huit jours, elle est plus épaisse et plus foncée.

Dans le *bouillon*, on a en vingt-quatre heures un trouble intense, avec un dépôt moyen; pas de voile à la surface.

Le *lait* n'est pas coagulé.

Les *milieux au tournesol* rougissent en vingt-quatre heures, puis ne changent plus.

Aucune culture ne donne la réaction de l'indol.

(1) Shiga, Ueber der Dysenteriebacillus (*Bacillus dysenteriae*) (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 817, 870 et 913).

Ce microbe tue la souris en quelques jours en inoculation sous-cutanée et très rapidement en inoculation intrapéritonéale. Il tue le cobaye en vingt-quatre heures en injection intrapéritonéale, en quelques jours en injection intrastomacale avec un peu de solution de soude ; il ne détermine rien s'il est introduit dans le rectum. Le lapin, le chat, sont aussi sensibles. La poule et le pigeon sont insensibles par la voie intestinale.

Le sang des malades agglutine fortement le Bacille, alors qu'il n'agglutine ni le *Bacille typhique*, ni la plupart des *Colibacilles*. Le microbe n'est jamais agglutiné par le sang d'individus sains ou atteints d'autres affections, ni par les sérums d'animaux immunisés contre la fièvre typhoïde, le choléra, la diphtérie.

Ce Bacille n'a jamais été rencontré dans les selles d'individus sains ou atteints de maladies autres que la dysenterie.

Roger (1) a isolé, dans sept cas d'entérite dysentériforme, un Bacille bien différent en inoculant, dans les veines d'un lapin, une culture impure obtenue en ensemençant du mucus intestinal dans du bouillon.

Avec dix gouttes, l'animal meurt en moins de vingt-quatre heures. Le sang et les organes renferment un très grand nombre de Bacilles, qu'ils donnent en cultures pures.

Ce sont des bâtonnets un peu plus courts que le *Bacille du charbon*, à extrémités arrondies, mobiles ; certains sont à peine plus longs que larges. Dans les cultures, ils sont souvent courts et plus grêles.

Ils se colorent facilement aux couleurs d'aniline et se décolorent par la méthode de Gram.

Ils se cultivent bien sur tous les milieux et peuvent vivre en anaérobies.

La *gélatine* est rapidement liquéfiée. Si l'ensemencement est fait par piqûre, il se forme de nombreuses bulles de gaz.

Sur *gélose*, il se forme un enduit épais, muqueux, avec odeur fétide.

Le *sérum coagulé* est ramolli, puis liquéfié lentement et incomplètement.

Sur *pomme de terre*, il se forme une tache jaunâtre, sèche, peu apparente.

Sur *carotte*, il se forme une culture blanche, assez épaisse.

L'*artichaut* prend rapidement une coloration vert intense, sur laquelle se détachent les colonies microbiennes jaunes. Le bouillon d'artichaut et la gélose préparée avec ce bouillon verdissent également très vite.

Dans le *bouillon*, le développement est rapide ; le liquide se trouble après quatre à cinq heures ; puis apparaissent des flocons et il se fait une production plus ou moins abondante de mucine. La réaction est fortement alcaline ; on perçoit une odeur putride, nauséabonde.

Dans le *bouillon glucosé*, la culture est pauvre ; il n'y a pas d'odeur ; la réaction est acide.

Le microbe est pathogène pour diverses espèces animales. Chez le lapin, l'inoculation intraveineuse de quatre à quinze gouttes de culture détermine la mort de vingt-quatre heures à treize jours, une fois en

(1) Roger, Note sur un Bacille rencontré dans sept cas d'entérite dysentériforme (*Soc. de Biol.*, 7 octobre 1899).

six heures et demie. Les anses intestinales sont remplies d'un liquide sanguinolent ; le foie est dégénéré ; la rate augmentée de volume. Lorsque l'animal survit quelque temps, il présente une diarrhée sanguinolente; on peut trouver sur le côlon des ulcérations semblables à celles de la dysenterie. Le microbe présente certainement une prédilection marquée pour le gros intestin ; même injecté dans les veines, il se localise sur les parties terminales du tube digestif. Il paraît bien être la cause des entérites dysentériformes observées ; il n'a jamais été rencontré dans les matières fécales d'hommes sains ou atteints d'entérite cholériforme.

Il serait peut-être à rapprocher du *Proteus vulgaris* que Macé et Mouginet ont signalé en 1890 dans les selles dysentériques.

BACILLE DE LA DIARRHÉE VERTE INFANTILE Lesage.

Il existe, chez l'enfant du premier âge, deux variétés de diarrhées dites *vertes*, à cause de la coloration caractéristique des selles. L'une doit sa coloration à la présence de pigment biliaire ; les selles, très acides, contiennent des acides et de la matière colorante de la bile, dont la présence est facilement démontrée à l'aide des réactions habituelles ; c'est la *diarrhée verte bilieuse*. La teinte de l'autre est due à un pigment spécial sécrété par une Bactérie en bâtonnets, signalée par Damaschino et Clado (1) et étudiée avec détails plus récemment par Lesage (2) ; c'est la *diarrhée verte bacillaire*. Ce dernier expérimentateur est parvenu à isoler le Bacille, à en obtenir des cultures pures qui ont occasionné chez les animaux une affection semblable à la maladie primitive.

Les selles, dans cette dernière variété, sont souvent neutres, parfois acides, mais faiblement. En couche mince, elles sont blanchâtres ; en masse, elles paraissent vert-épinard, jaune vert ou jaune foncé. Examinées au microscope, elles ne montrent pas de cristaux d'acides biliaires, mais en quantité la Bactérie spéciale, accompagnée de bien moins nombreux individus des quelques espèces qui pullulent toujours dans l'intestin. On parvient facilement à les séparer par des cultures pures sur tous les milieux habituels. Cette espèce est aérobie et se montre assez exigeante au point de vue de la température. Elle se développe au mieux vers 30-35°, lentement au-dessous de 18°, plus du tout à 5° ; soumise pendant cinq jours à 0°, elle ne se reproduit plus.

Pour certains, ce microbe ne serait qu'une variété de *Colibacille* pouvant produire du pigment vert. On verra, en effet, qu'il se rapproche de cette dernière espèce par bien des caractères.

Les dimensions des bâtonnets sont variables, suivant le milieu de culture employé. Ils ont d'ordinaire de 2 à 4 μ de long sur 0,75 μ à 1 μ de large ; dans les vieilles cultures, sur gélatine surtout, on trouve des filaments qui atteignent 15 μ de longueur. Ils présentent une motilité bien évidente ; leurs mouvements ne sont toutefois pas très vifs,

(1) Damaschino et Clado, *Soc. de Biol.*, décembre 1884.

(2) Lesage, De la dyspepsie et de la diarrhée verte des enfants du premier âge (*Revue de méd.*, 1887, n° 12, et 1888, n° 1). — *Id.*, Du Bacille de la diarrhée verte des enfants du premier âge (*Arch. de phys.*, 1888, n° 2, p. 212).

moins prononcés par exemple que ceux du *Bacille typhique*. Dans certaines cultures, ces Bacilles donnent facilement des spores; on en trouve, de douze à vingt-quatre heures, dans les cultures sur gélatine; elles sont rares dans les cultures sur pomme de terre. Ces spores, d'après Lesage, sont sphériques, réfringentes, se colorent facilement par les couleurs d'aniline et se produiraient au nombre de deux par bâtonnet, séparées par un espace clair. Dans les filaments, les spores sont plus grosses ; elles ont de 1,5 μ à 2 μ, disposées en chapelets; elles produisent, par bourgeonnement sans doute, dit l'auteur cité, une spore fille à chacun de leurs pôles. Ces phénomènes diffèrent trop des résultats connus jusqu'ici pour qu'on les accepte sans confirmation ultérieure. Lesage n'a, du reste, pas observé la germination directe de ces spores.

En *cultures sur plaques de gélatine*, il se forme des petites colonies verdâtres, granuleuses, ne *liquéfiant* pas la gélatine.

Inoculé en *piqûre sur gélatine*, ce Bacille se développe peu dans le canal de la piqûre, où il donne une mince ligne blanchâtre ; à la surface, il produit un disque verdâtre tantôt opaque, tantôt translucide. En *strie*, la culture apparaît en deux jours à 20° ; elle forme un voile mince, verdâtre, translucide, à surface lisse, à bords frangés, foliacés. La gélatine du tube devient verdâtre en quatre ou cinq jours et ne subit pas de liquéfaction, mais parfois seulement un léger ramollissement de la surface.

Sur *gélose*, *sérum solidifié* et *blanc d'œuf cuit*, on obtient de semblables colonies verdâtres.

Sur *pomme de terre*, de un à trois jours, apparaît une culture verte qui s'étend lentement sur toute la surface qu'elle couvre complètement en huit ou dix jours. La colonie a une surface luisante, d'aspect gras, et des bords droits ou peu sinueux. La partie supérieure de la pomme de terre se colore en vert; en vieillissant, la coloration prend des nuances rougeâtres. Ces cultures contiennent un Bacille plus court et plus gros que celui des cultures sur autres milieux.

Dans le *bouillon*, le développement est rapide à 30° ; en quarante-huit heures, le liquide est trouble et dépose un sédiment verdâtre.

Les cultures dégagent toutes une odeur fade ; il s'y trouverait aussi des ptomaïnes qui n'ont pas encore été étudiées.

La matière colorante n'a pas pu être isolée. Elle ne se produit abondamment dans les cultures qu'en présence d'un excès d'air; ce qui concorde avec le fait, observé depuis longtemps par les cliniciens dans ces diarrhées infantiles, que les selles verdissent souvent dès qu'elles sont exposées à l'air. Ce pigment est insoluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme et est décoloré par les acides.

A côté du pigment vert, d'après Cathelineau (1), il existerait une fluorescence verdâtre.

Les Bacilles des selles ou des cultures se colorent très bien par toutes les couleurs d'aniline et se *décolorent* par la méthode de Gram.

L'injection sous-cutanée de fortes doses de matière de culture à des

(1) Cathelineau, Contribution à l'étude biologique du *Bacillus viridis* de Lesage (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 228).

animaux ne produit aucune modification locale des tissus et n'occasionne pas de diarrhée. Le Bacille pénètre cependant dans la circulation générale, car Lesage en a retrouvé une fois dans la rate.

En injection intraveineuse, chez le lapin, il faut de fortes doses pour obtenir des résultats évidents, au moins une seringue de Pravaz de bouillon de culture. Il se produit quelques convulsions passagères, et si l'on sacrifie l'animal de trente à quarante heures après l'opération, on trouve dans l'intestin grêle un contenu liquide, vert, où fourmille la Bactérie spéciale. Chez les lapins laissés en vie, la diarrhée apparaît bientôt, dure deux ou trois jours, puis s'arrête; l'animal guérit vite.

La même diarrhée apparaît lorsqu'on fait absorber du produit de culture, qu'on en injecte directement dans l'estomac ou dans l'intestion grêle.

La vitalité des cultures résiste à la dessiccation, mais moins à la chaleur ; une température de 100° tue en dix minutes les Bacilles et les spores. L'air paraît être le véritable agent de transmission de l'affection si contagieuse, dans les salles d'hôpital ou de crèches surtout où sont réunis de nombreux nourrissons. Le Bacille végète lentement dans l'eau qui doit pouvoir transmettre aussi la maladie lorsqu'elle a été infectée.

Cette espèce ne croît pas sur les milieux de culture légèrement acidifiés avec l'acide lactique. C'est ce qui prouve que la méthode de traitement par les acides et surtout l'acide lactique, établie par Hayem (1), est absolument rationnelle.

BACILLUS FŒCALIS ALCALIGENES Petruschky.

Petruschky (2) l'a isolé d'une bière gâtée et du contenu intestinal d'un typhique.

Il se place tout au voisinage du *Colibacille* et du *Bacille typhique* dont il a les principaux caractères.

Il ne coagule pas le lait qu'il rend manifestement alcalin. Il n'attaque aucune matière sucrée et ne donne pas d'indol. Sur pomme de terre, il forme lentement une culture assez épaisse et fait brunir le milieu. Le sérum typhique n'a sur lui aucune action agglutinante. Il bleuit nettement les milieux additionnés de teinture de tournesol.

BACILLUS ENDOCARDITIS GRISEUS Weichselbaum.

Weichselbaum (3) l'a rencontré dans les végétations valvulaires d'un cas d'endocardite.

Ce sont des Bacilles mobiles, ayant les dimensions du *Bacille typhique*, présentant souvent les extrémités renflées. Ils ne forment pas de spores et *restent colorés* par la méthode de Gram.

(1) Hayem, Traitement de la dyspepsie du premier âge et particulièrement de la diarrhée verte; nature microbienne de cette maladie (*Bull. de l'Acad. de méd.*, séance du 17 mai 1887).

(2) Petruschky, Bacillus fœcalis alcaligenes (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 187). — Fischer, Zur Biologie der Bacillus fœcalis alcaligenes (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 693).

(3) Weichselbaum, Beiträge zur Aetiologie und pathologische Anatomie der Endocarditis (*Ziegler's Beiträge*, IV, 1888, p. 127).

Les colonies des cultures sur plaques ressemblent beaucoup à celles du *Pneumobacille*. La culture sur gélose est aussi très semblable d'aspect ; en piqûre, cependant, le milieu prend une teinte jaunâtre. Sur pomme de terre, la culture est abondante, sèche, grisâtre ou brun jaunâtre.

L'inoculation sous-cutanée au lapin et à la souris ne donne qu'une inflammation locale avec suppuration.

BACILLUS ICTEROIDES Sanarelli.

(*Bacille de la fièvre jaune.*)

L'étiologie et la pathogénie de la fièvre jaune ont été longtemps fort obscures. On était unanime à reconnaître que la marche de l'affection correspondait bien à une infection microbienne ; mais les nombreuses tentatives faites pour isoler un agent spécifique ne donnaient pas de résultats satisfaisants.

Domingos Freire (1) a décrit, dans une série de travaux, un Microcoque qu'il considère comme spécifique ; il l'a nommé *Cryptococcus xanthogenicus*.

C'est un petit coccus à éléments sphériques de 1 μ de diamètre environ, très mobiles. Il se colore bien aux couleurs d'aniline et ne se décolore pas par la méthode de Gram. Les méthodes spéciales colorent au moins deux cils. Certains éléments montrent de petites capsules.

Les cultures s'obtiennent facilement sur les milieux habituels.

Sur *plaques de gélatine*, on a de petites colonies rondes, d'abord blanches, puis devenant jaune de chrome ; la gélatine est rapidement liquéfiée. Les plaques dégagent une odeur vireuse.

Sur *gélatine*, en piqûre, il se forme une culture blanche, jaunissant assez lentement en liquéfiant la gelée en forme de cupule ; dans le fond du liquide se voit un dépôt jaune brun foncé.

Sur *gélose*, il se forme une bande blanche devenant jaune de chrome.

Sur *pomme de terre*, il se développe une large colonie jaune de chrome.

Le *bouillon* se trouble vite ; par sédimentation, on a un dépôt blanc qui jaunit.

Le *lait* est un bon milieu de culture ; le microbe ne le coagule pas et le rend alcalin.

Les milieux ne donnent jamais la réaction de l'indol. Les bouillons de culture sont toxiques.

Les cultures sont virulentes pour les chiens, les lapins, les cobayes, et détermineraient chez ces animaux des symptômes très semblables à ceux de la fièvre jaune, avec les mêmes lésions anatomo-pathologiques.

Chez l'homme atteint de fièvre jaune, ce microbe se trouve dans le sang, aussi bien dans le cœur et les gros vaisseaux que dans les réseaux capillaires des organes ; on le trouve aussi dans le vomissement brun spécial (*vomito negro*), dans les selles noires.

(1) Domingos Freire, Recherches sur la cause, la nature et le traitement de la fièvre jaune. Rio-de-Janeiro, 1880. — *Id.*, Nombreuses autres publications citées ou résumées dans : Mémoire sur la bactériologie, pathogénie, traitement et prophylaxie de la fièvre jaune. Rio-de-Janeiro, 1898.

Domingos Freire aurait obtenu de bons résultats, curatifs et préventifs, chez l'homme, par l'inoculation de cultures atténuées.

Les recherches de Sanarelli (1) ont été poursuivies avec une méthode bien préférable; elles l'ont conduit à la découverte du microbe auquel il a donné le nom de *Bacillus icteroides*, qu'il donne comme le véritable agent spécifique de la maladie infectieuse en question.

Il a obtenu ce microbe en mettant en culture du sang pris sur des malades atteints de fièvre jaune, du sang du cadavre, de la rate, du foie, des poumons, de l'urine et de la bile de cadavres. Dans le cadavre, on le trouve associé à d'autres espèces microbiennes, en particulier le *Colibacille*, le *Streptocoque* et le *Staphylocoque doré*, dont le développement peut masquer le sien et dont il est nécessaire de le séparer, surtout au moyen des cultures sur plaques.

Le *Bacille ictéroïde* est un bâtonnet mobile, d'une longueur de 2 à 4 μ sur 1 μ de large, à extrémités arrondies, le plus souvent réuni par couples.

Il se colore facilement aux couleurs d'aniline et se *décolore* par la méthode de Gram. Par les méthodes spéciales, on colore de quatre à huit longs cils.

Il se cultive facilement sur les milieux habituels et se comporte en anaérobie facultatif.

Cultures sur plaques de gélatine. — Après vingt-quatre heures à 20°, on distingue déjà, à un faible grossissement, de petites colonies punctiformes, arrondies, transparentes, incolores, sans noyau, d'aspect brillant et granuleux. Lorsqu'elles sont nombreuses et rapprochées, elles cessent vite de croître et, après six à sept jours, elles prennent un aspect opaque, sombre. Si, au contraire, elles peuvent se développer facilement, elles augmentent de volume en gardant leur forme sphérique et leur aspect brillant et granuleux. Peu à peu apparaît un noyau foncé, central ou excentrique, entouré d'un petit halo clair, d'où partent de fines irradiations qui vont se terminer près de la périphérie; l'aspect radié peut être très marqué sur certaines colonies. L'aspect des colonies est bien caractéristique vers le cinquième jour; plus tard, l'opacité survient, progresse, en ne laissant qu'une petite zone transparente, au centre de laquelle se dessine nettement le noyau, rond, d'un noir sombre. Les colonies de l'intérieur de la gelée peuvent être d'un noir d'encre. La gélatine n'est jamais liquéfiée. Ces colonies se distinguent facilement de celles du *Colibacille* que l'on peut observer à leurs côtés, en ce qu'elles sont toujours incolores et deviennent simplement peu à peu opaques sans jamais prendre la coloration brunâtre châtain qui caractérise toutes les colonies de *Colibacille*.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre*, il se forme à la surface un petit disque muqueux, transparent, et dans la piqûre de petites colonies sphériques opaques.

En *strie*, si l'ensemencement est copieux, il se forme une fine couche irisée; si l'ensemencement est pauvre, il se développe de petites colonies isolées, arrondies, d'un blanc laiteux, qui n'augmentent guère si elles sont serrées. Si elles sont bien isolées, elles continuent à croître et,

(1) Sanarelli, Étiologie et pathogénie de la fièvre jaune (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 433 et 673). — *Id.*, L'immunité et la sérothérapie de la fièvre jaune (*Ibid.*, p. 753).

à un moment donné, fusent vers la partie déclive en donnant des traits sinueux semblables à des petites rigoles de cire blanche brillante.

Cultures sur gélose. — Avec un ensemencement pauvre, comme celui du sang ou du suc de rate ou de foie, ne donnant que quelques colonies bien isolées, on obtient des cultures très caractéristiques. A 37°, on observe de douze à vingt-quatre heures le développement de petites colonies rondes grisâtres, un peu irisées, transparentes, à surface lisse. Si les cultures sont laissées à cette température, les colonies croissent pendant quelque temps, puis restent stationnaires sans changer d'aspect. Si, au contraire, on transporte les cultures à une température de 20° à 28°, le mode d'accroissement change complètement. Après une dizaine d'heures, il se forme autour des colonies primitives un bourrelet saillant, blanc opaque, à reflets nacrés, contrastant nettement avec la partie centrale qui reste irisée, transparente. Le bourrelet grandissant, faisant nettement saillie, les colonies à un moment donné prennent l'aspect d'un sceau de cire à cacheter. Les colonies peuvent fuser vers les parties déclives, en donnant de petites traînées transparentes. En exposant de suite les cultures à la température de 20° à 28°, les colonies qui se développent ont l'aspect de gouttes de lait, à surface luisante, très relevées. En reportant ces cultures à 37°, on a le phénomène inverse du précédent : la partie centrale de la colonie est prééminente, la zone périphérique est surbaissée.

Avec un ensemencement abondant, les colonies confluent rapidement; le bourrelet est remplacé par un rebord brillant et opaque.

Cultures sur sérum solidifié. — Le milieu paraît peu propice ; il s'y forme une petite culture luisante, transparente, souvent peu visible.

Cultures sur pomme de terre. — Il s'y développe, à la surface, une fine pellicule transparente, glacée, très difficile à percevoir, qui ne se nuance jamais.

Cultures dans le bouillon. — Il s'y fait un trouble peu abondant, sans pellicule ni dépôt. On y rencontre beaucoup de formes d'involution.

Cultures dans le lait. — Le *Bacille ictéroïde* s'y développe bien, sans produire de coagulation.

Cultures en milieux sucrés. — Le développement y est abondant; en ajoutant un peu de craie, avec le glucose on observe une fermentation active, une fermentation minime avec le saccharose et rien du tout avec le lactose. Cependant, sur la gélose lactosée au tournesol, la couleur bleue vire peu à peu au rouge, ce qui paraît indiquer la production d'un peu d'acide lactique aux dépens du sucre de lait.

Le microbe paraît former de petites quantités d'indol ; on obtient une faible coloration rose avec le nitrite de potasse et l'acide sulfurique, rien par contre avec la réaction de Legal.

Le *Bacille ictéroïde* est pathogène pour la plupart des animaux d'expérience. Chez les souris blanches, les cobayes, les lapins et surtout chez le chien, il produit une maladie cyclique assez analogue à la fièvre jaune humaine. L'infection s'obtient facilement par inoculation sous-cutanée, intrapéritonéale, intraveineuse ou intratrachéale. Chez le chien, on retrouve très bien les trois principales propriétés du virus qui contribuent à donner à la fièvre jaune humaine sa physionomie spéciale : les propriétés stéatogènes, qui influent surtout sur le foie dont les cellules sont atteintes de dégénérescence graisseuse prononcée, cette

altération du foie ayant pour conséquence l'ictère qui se manifeste généralement; les propriétés congestives et hémorragipares qui déterminent des congestions vasculaires, des hémorragies à la surface des muqueuses, origine du vomissement de sang (*vomito negro*); des propriétés émétiques dues à la diffusion dans le sang d'un principe à effets comparables à ceux de l'apomorphine.

La plupart des symptômes et des lésions sont dus à un poison spécifique que le *Bacille ictéroïde* produit dans les cultures et qui peut alors déterminer à lui seul le tableau morbide qu'offre l'inoculation du microbe vivant.

Pour l'étudier, on se sert de cultures en bouillon, âgées de quinze à vingt jours, filtrées sur bougie Chamberland; c'est ce qu'on peut appeler la *toxine ictéroïde*.

Les cobayes et les lapins sont assez résistants; pour obtenir la mort, il faut employer de fortes doses, même en inoculation intraveineuse; les lésions obtenues sont peu spéciales. Le chien est plus sensible; la chèvre également. Le cheval est très sensible. L'injection sous-cutanée de 5 centimètres cubes détermine un fort œdème local avec fièvre, lent à disparaître. L'injection intraveineuse est mieux tolérée, mais produit régulièrement un fort accès de dyspnée avec tremblement général. On peut progressivement augmenter les doses, mais très lentement pour éviter les accidents.

Chez l'homme malade, le microbe se trouve surtout dans le sang et peut-être exceptionnellement dans le tube digestif. Il paraît se multiplier très peu dans l'organisme pendant la maladie. L'action est surtout due à la toxine qui diffuse et agit ou directement ou indirectement en déterminant des modifications comme celles qu'elle peut produire sur le foie ou la muqueuse digestive, ou bien en facilitant extraordinairement les infections secondaires.

Ces infections secondaires sont, en effet, ici si importantes qu'elles peuvent en imposer et arriver à masquer complètement la véritable infection spécifique. Il se forme une infection mixte qui prend les caractères d'une septicémie; d'un autre côté, les microbes survenus deviennent rapidement prédominants, de sorte qu'on est tenté de les tenir pour spécifiques. Les microbes que l'on rencontre surtout dans ces conditions sont le *Colibacille*, le *Streptocoque pyogène*, le *Staphylocoque doré*, le *Proteus vulgaris*, provenant à n'en pas douter de l'intestin, d'où ils sont devenus virulents et envahissants grâce aux effets de la toxine ictéroïde. L'expérience démontre que les produits solubles du *Bacille ictéroïde* favorisent nettement le développement de ces microbes qui, au contraire, nuisent au développement du premier.

On ne sait rien de la répartition du microbe dans le milieu extérieur ni du mode de contagion. L'eau a été incriminée, mais sans preuves bien évidentes.

La contagion peut se faire par voie intestinale, surtout lorsque l'intestin est malade, ce qui est si fréquent dans les pays chauds. L'expérimentation démontre qu'elle est possible par les voies respiratoires.

Le *Bacille ictéroïde* peut résister longtemps à la dessiccation à la température ordinaire, au moins cent soixante-quatre jours dans une expérience. Il est assez sensible à la chaleur; une température humide de 60° le tue en quelques instants, 65° immédiatement; à la chaleur

sèche, il résiste au moins une heure à 100° et ne périt instantanément qu'à 125°. L'insolation le tuerait en sept heures environ.

Il peut vivre longtemps dans l'eau de mer, stérilisée ou non; Sanarelli l'y a retrouvé vivant jusqu'au cinquantième jour.

Les Moisissures exercent sur le développement du *Bacille ictéroïde* une action favorable très marquée. Dans des cultures sur plaques qu'envahissent les Moisissures, on voit apparaître très vite autour de chaque colonie mycélienne une couronne de petites colonies punctiformes qui se développent rapidement, tandis que les colonies du restant de la plaque restent beaucoup plus petites et sont bien moins serrées. Les conditions favorisant le développement des Moisissures, la grande humidité et le manque de ventilation surtout, peuvent donc jouer un rôle dans le développement et l'extension du contage et conséquemment de la maladie.

Il est possible d'arriver à immuniser certains animaux, le chien et le cheval, en se servant de toxine, à doses très faibles d'abord, puis de virus vivant. Une immunisation solide est très difficile à obtenir. Le sérum a alors une action préventive certaine chez les animaux ; on ne sait encore rien de son action chez l'homme. D'après Archinard et Woodson (1), il serait possible d'établir un séro-diagnostic sérieux en procédant comme pour le *Bacille typhique*.

Havelburg (2) donne comme agent pathogène de la fièvre jaune un Bacille différent du précédent, qu'il obtient d'une tout autre façon. En injectant sous la peau d'un cobaye 1 à 2 centimètres cubes du contenu de l'estomac d'un individu mort de fièvre jaune, l'animal meurt infailliblement, et l'on trouve toujours dans son sang, en culture pure, un microorganisme spécial qu'il regarde comme spécifique.

C'est un très petit Bacille de 1 μ de long sur 0,3 à 0,5 μ de large, isolé ou réuni par paires. Souvent les deux pôles sont plus brillants, ce qui le fait prendre pour un diplocoque. La mobilité est douteuse; il n'a pas de cils. Il ne forme pas de spores.

Il se colore facilement par les couleurs d'aniline et se *décolore* par la méthode de Gram.

Il est anaérobie facultatif; dans l'hydrogène, les cultures sont même plus belles qu'à l'air.

Sur *plaques de gélatine*, les colonies, d'abord blanches punctiformes, montrent un disque jaunâtre granulé avec un bord finement dentelé. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur *gélatine*, en piqûre, on obtient une culture en clou, blanche, qui ne liquéfie jamais.

Sur *gélose*, la culture est d'un blanc grisâtre.

Le *bouillon* se trouble vite et donne un dépôt grisâtre.

Le *lait* est coagulé en douze heures.

Sur *pomme de terre*, la culture est une mince couche grise.

Les milieux qui renferment du glucose ou du lactose fermentent rapidement.

(1) Archinard et Woodson, The serum-diagnosis of Yellow-Fever (*New Orleans med. and. surg. Journ.*, février 1898).

(2) Havelburg, Recherches expérimentales et anatomiques sur la fièvre jaune (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 515, et *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1897).

Le microbe pousse dans les milieux acides, même très acides.

La production d'indol est toujours très intense ; il y a également une considérable production d'hydrogène sulfuré.

Le microbe tue facilement le cobaye et la souris, plus difficilement le rat ; il n'agit sur le chien qu'en injection intrapéritonéale et n'a aucune action sur la poule. Le microbe se trouve en abondance dans le sang des animaux qui ont succombé.

Chez le malade, sa localisation est presque exclusivement stomacale et intestinale ; ce n'est qu'exceptionnellement que de là il envahit les autres organes. Il formerait dans l'estomac et l'intestin une substance toxique dont la résorption amènerait les graves lésions de la maladie et souvent la mort.

En somme, actuellement la question de l'agent spécifique de la fièvre jaune ne paraît pas encore tranchée d'une manière définitive.

BACILLUS ENTERITIDIS SPOROGENES Klein.

C'est un microbe anaérobie bien distinct par ses caractères des espèces dont il vient d'être parlé, mais qu'il peut être intéressant de décrire ici à cause des processus pathologiques qu'il peut déterminer. Sa véritable place serait au voisinage du *Vibrion septique* et du *Bacille du charbon symptomatique* d'un côté, des *Bacilles butyriques* de l'autre.

Klein (1) l'a isolé des selles de malades atteints de diarrhée affectant la forme épidémique. Ces selles contenaient en abondance des amas de spores ovales, brillantes, libres ou enfermées dans des bâtonnets. Les cultures aérobies donnèrent du *Colibacille* en abondance ; les cultures anaérobies en gélatine glucosée donnèrent rapidement de petites colonies sphériques, transparentes, liquéfiant le milieu et produisant des bulles gazeuses venant surnager le liquide. L'examen microscopique montra que ces dernières étaient formées de bâtonnets cylindriques pouvant contenir des spores ovales semblables à celles qui se voyaient dans les selles.

Les bâtonnets ont une longueur de 1,6 μ à 4,8 μ ; les spores libres ont 1,6 μ de long sur 0,8 à 1 μ de large. Les Bacilles sont faiblement mobiles ; beaucoup paraissent même immobiles.

Ils se colorent facilement aux couleurs d'aniline et *restent colorés* par la méthode de Gram. Les méthodes spéciales colorent à une extrémité de six à huit cils, longs, flexueux, souvent spiralés, et deux ou trois à l'autre. Le traitement par l'iode fait apparaître des granulations bleues dans les bâtonnets.

Ce microbe ne se cultive qu'en anaérobie. Il est possible de le séparer d'autres espèces en chauffant pendant dix à quinze minutes à 78-80° ; le *Colibacille*, en particulier, qui l'accompagne fréquemment, est sûrement tué. Les spores du *Bacillus enteritidis sporogenes* résistent : elles supportent même 100° pendant deux ou trois minutes et ne périssent à cette température qu'après quatre minutes.

Dans la *gélatine glucosée* à 20°, après répartition de semence dans la masse fondue, puis refroidie, on voit apparaître, après vingt-quatre

(1) Klein, Ueber einen pathogenen anaëroben Darmbacillus, *Bacillus enteritidis sporogenes* (*Centralbl. für Bakt.*, XVIII, 1895, p. 737). — *Id.*, Ueber die Verbreitung des anaëroben virulenten, *Bacillus enteritidis sporogenes* (*Ibid.*, XXIII, 1898, p. 542).

heures environ, de petites colonies sphériques, transparentes, qui liquéfient la gelée autour d'elles; un grand nombre d'entre elles produisent de petites bulles de gaz. En quarante-huit heures, la gélatine est liquéfiée, les bulles gazeuses sont venues à la surface et au fond se trouve un dépôt floconneux. Ces cultures dégagent une forte odeur d'acide butyrique.

Sur *gélose glucosée* à 37°, les colonies sont arrondies, grisâtres et ont un centre granuleux. En inoculant dans la profondeur, il se produit des bulles de gaz qui brisent la gelée.

Sur *sérum solidifié* à 37°, il se forme une colonie grisâtre; le milieu est liquéfié, présente une réaction alcaline et dégage une odeur forte.

La culture dans le *lait* est assez spéciale. En laissant le lait à 37°, on ne remarque aucun changement dans les vingt-quatre heures ; après trente-six à quarante-huit heures, le milieu devient un peu transparent et on remarque de nombreuses bulles de gaz dans la couche de crème qui s'est formée. Après soixante-douze heures, le lait est devenu nettement transparent et vingt-quatre heures après la partie moyenne est claire comme de l'eau, tandis que les parties supérieures et inférieures contiennent des flocons de caséine coagulée. Des spores ne se forment que tardivement, après dix à quatorze jours. Les cultures ont une forte odeur d'acide butyrique.

Avec un microbe qui a déjà subi plusieurs passages en cultures, ces modifications sont plus lentes à se produire.

D'après Wild (1), sur *pomme de terre*, les colonies sont lentes à venir et restent petites, jaunâtres.

Les bulles gazeuses dégagées sont presque exclusivement du méthane.

Ce microbe est nettement pathogène pour le cobaye. En inoculant sous la peau 0,5 ou 1 centimètre cube d'une culture dans le lait ou la gélatine âgée de quelques jours, l'animal paraît déjà malade après six à huit heures; il meurt vingt-quatre heures environ après l'inoculation. A l'autopsie, on trouve la peau des flancs, du ventre, de la poitrine, même du cou, soulevée par des collections gazeuses; le tissu musculaire est infiltré, gangreneux ; le péritoine est congestionné, parfois aussi l'intestin ; on trouve de la sérosité péritonéale sanguinolente dégageant une odeur forte, des gaz et du mucus sanglant dans l'intestin. La sérosité sous-cutanée montre de nombreux Bacilles courts, peu mobiles, jamais de filaments, ce qui les fait distinguer du *Vibrion septique*. Son pouvoir pathogène le distingue nettement du *Bacillus butyricus* de Botkin dont le rapprochent certains caractères.

Ce microbe paraît très répandu. Klein l'a en outre trouvé abondant dans les eaux d'égout, les eaux de rivières souillées, dans le fumier de cheval, dans les poussières des rues, la terre cultivée; il l'a trouvé en plus dans une seconde épidémie de diarrhée, mais jamais dans le contenu intestinal de l'homme sain.

Les cultures âgées, affaiblies, ne tuent plus le cobaye, mais déterminent simplement une tuméfaction au point d'inoculation. Cette tuméfaction reste dure et disparaît peu à peu, ou devient fluctuante et donne issue à du liquide séreux.

(1) Wild, Beitrag zur Kenntniss des *Bacillus enteritidis sporogenes* (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 913).

BACILLUS BOTULINUS Van Ermenghem.

Quoique ce microbe soit aussi, par sa morphologie et sa biologie, bien différent des précédents, il peut paraître intéressant et utile de placer ici sa description à cause du rôle important qu'il doit jouer dans les empoisonnements alimentaires où interviennent des espèces qui viennent d'être citées. Les accidents, qui paraissent bien devoir lui être rapportés, semblent présenter les caractères particuliers de ce que l'on désigne depuis longtemps sous les noms de *botulisme*, d'*ichtyosisme*, fréquemment observés à la suite d'ingestion de saucisses, boudins, conserves de viande, pâtés de gibier ou de foies, poissons salés, etc. Ces accidents diffèrent des autres intoxications alimentaires par l'importance beaucoup moindre des symptômes intestinaux et la prédominance des symptômes nerveux, troubles visuels particulièrement.

Van Ermenghem (1) attribue à cette Bactérie une petite épidémie alimentaire observée à Ellezelles, dans le Hainaut, chez un certain nombre de personnes ayant consommé des saucissons et du jambon fumés d'une certaine origine. La viande fraîche et salée du porc ayant servi aux premières préparations avait pu être consommée impunément, ce qui démontre que l'agent pathogène n'existait pas chez l'animal avant l'abatage, comme c'était le cas pour les espèces précédentes, mais s'était développé postérieurement, pendant les manipulations auxquelles la viande avait été soumise.

L'ingestion des viandes suspectes a permis de reproduire, chez le chat, le pigeon, le lapin et le cobaye, le singe, des troubles pathologiques ayant une grande ressemblance avec les symptômes observés chez les personnes intoxiquées, dont une avait succombé.

Le microbe fut rencontré dans les viandes incriminées, dans l'intestin et les différents organes de la personne qui avait succombé, chez les animaux qui avaient ingéré des viandes.

Depuis, le *Bacillus botulinus* a été retrouvé plusieurs fois dans des conditions similaires.

C'est une Bactérie en bâtonnets droits, à extrémités un peu arrondies (fig. 269), mesurant 4 à 6 μ de longueur sur 0,9 à 1,2 μ d'épaisseur. Les éléments sont isolés, rarement réunis par deux, avec des articulations nettes ; les formes filamenteuses sont exceptionnelles. Dans certains milieux, on voit fréquemment des Bacilles en baguette de tambour, en poire, en fuseau.

Ces Bacilles sont un peu mobiles ; par les méthodes de colorations spéciales, il est possible de leur reconnaître de quatre à huit cils grêles implantés irrégulièrement sur l'élément.

Beaucoup de bâtonnets peuvent produire des spores, généralement terminales, parfois médianes, ovales, allongées, plus larges que le bâtonnet.

Ils se colorent bien par les méthodes ordinaires et *restent colorés* par

(1) Van Ermenghem, Recherches sur les empoisonnements produits à Ellezelles par du jambon (*Ann. de micr.*, VIII, 1896, p. 66). — *Id.*, Contribution à l'étude des intoxications alimentaires; recherches sur des accidents à caractères botuliniques provoqués par du jambon (*Arch. de pharmacodynamie*, III, 1897).

la méthode de Gram, mais la décoloration par l'alcool est assez rapide et l'action du réactif demande à être surveillée.



Fig. 269. — *Bacillus botulinus* d'une culture en gélatine glucosée (d'après Van Ermenghem).

Ce microbe est un anaérobie strict ; la moindre trace d'air empêche son développement. Il faut le cultiver dans le vide ou dans un gaz indifférent comme l'hydrogène ; l'acide carbonique ne convient pas, le gaz d'éclairage non plus. Il lui faut en plus des milieux à réaction franchement alcaline ; le meilleur paraît être la gélatine glucosée. A 16°, le développement est très lent ; à 18°, il pullule bien ; son optimum paraît être entre 20° et 30° ; à 35°-40°, son développement est moindre ; c'est une température dysgénésique.

Sur *plaques de gélatine glucosée*, les colonies datant de quatre à six jours, examinées à un grossissement de 60 diamètres, sont circulaires, transparentes, de coloration jaune brun clair et formées de gros grains réfringents, continuellement en mouvement, surtout dans la partie périphérique ; autour de la colonie, on observe un cercle de liquéfaction généralement peu étendu. Plus tard, la colonie prend un aspect radié et peut émettre des prolongements en doigt de gant assez réguliers ou irréguliers. Dans les gélatines molles, ces colonies peuvent présenter des formes extrêmement variées. La liquéfaction s'étend à tout le milieu.

Dans la *gélatine glucosée en tube*, les colonies apparaissent le long de la piqûre comme de petites masses arrondies, blanchâtres, envoyant des prolongements en divers sens. La gélatine se liquéfie peu à peu autour d'elles et il apparaît, dans le voisinage, de nombreuses bulles de gaz qui brisent la gélée restée solide et peuvent la projeter même hors du tube, ou s'amassent à la surface libre en une masse spumeuse. A la fin, la gélatine se liquéfie totalement ; on a au fond du tube une masse floconneuse, blanchâtre, qui produit des bulles pendant longtemps, et au-dessus un liquide clair.

Dans la *gélose glucosée*, les cultures n'ont rien de spécial ; elles dégagent beaucoup de gaz qui déchirent le milieu en tous sens après quelques jours.

Ces cultures sur gélatine et gélose dégagent une odeur butyrique franche, nullement putride.

Dans les milieux additionnés de lactose, de saccharose, le développement reste précaire et il ne se forme que peu de gaz.

Sur ces milieux, en surface, le développement est presque nul. Il en est de même sur *pomme de terre*.

Les *bouillons glucosés* se troublent uniformément et donnent beaucoup de gaz. A 35°, au bout de quelques jours le développement cesse et le liquide s'éclaircit ; à 20-25°, il peut se poursuivre pendant des semaines. L'odeur est également butyrique.

Le *lait* ne change pas d'aspect et ne se coagule jamais ; la multiplication y est toujours peu abondante.

Les gaz produits dans les milieux glucosés sont surtout de l'acide carbonique, puis de l'hydrogène et du méthane. On constate la présence d'alcool butylique et d'acides gras, parmi lesquels l'acide butyrique, des amines et de petites quantités de mercaptan de méthyle.

L'odeur n'est jamais putride ; elle est franchement butyrique, comme celle constatée dans le jambon ayant causé les accidents.

Les cultures conservent très longtemps leur vitalité lorsqu'elles n'ont pas été soumises à une température supérieure à 30° ; au cas contraire, elles périssent vite. Les spores sont relativement très peu résistantes ; elles sont tuées après une heure à 80°, après un quart d'heure à 85° ; l'acide phénique à 5 p. 100 les tue en moins de vingt-quatre heures.

Un excès de chlorure de sodium entrave nettement le développement ; il est complètement empêché dans les milieux qui en contiennent plus de 6 p. 100, et ne peut conséquemment pas se faire dans les bonnes saumures habituelles contenant au minimum 10 p. 100 de sel.

Les cultures sont pathogènes pour les singes, les souris, les cobayes, les lapins, les pigeons et les chats. Elles déterminent chez ces animaux absolument les mêmes symptômes que ceux que leur ont occasionné le suc ou le macéré du jambon incriminé. Les chiens, les poules, les grenouilles sont réfractaires. Le lapin est plus sensible que le cobaye et la souris plus que le lapin ; il faut des doses extrêmement minimes, en injection sous-cutanée, pour les tuer. Par ingestion, il faut des doses relativement considérables pour tuer le cobaye, des doses minimes pour la souris ; le lapin résiste dans ce cas avec de fortes doses.

A l'autopsie, on trouve de la congestion plus ou moins intense de la plupart des organes. Marinesco (1), Kempner et Pollack (2), ont décrit des lésions spéciales des cellules nerveuses centrales.

Les symptômes produits sont dus à l'action d'une toxine spéciale sécrétée par le microbe, qui a été extraite par Brieger (3) des bouillons de cultures. Les bouillons de cultures filtrés sur bougie Chamberland

(1) Marinesco, Lésions des centres nerveux produites par la toxine du *Bacillus botulinus* (*Soc. de Biol.*, 1896).

(2) Kempner et Pollack, Die Wirkung des Botulismustoxins und seines specifischen Antitoxins auf die Nervenzellen (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1897, n° 32).

(3) Brieger et Kempner, Beitrag sur Lehre von der Fleichvergiftung (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1897, n° 33).

produisent chez les animaux des effets très semblables à ceux obtenus avec les cultures vivantes. Comme pour le *Bacille du tétanos*, les spores privées de toxine par lavage ne déterminent aucun accident chez les animaux réceptifs, mais sont rapidement détruites par les phagocytes.

Kempner (1) a pu avec difficultés immuniser une chèvre avec de la toxine botulinique. Le sérum, d'un pouvoir immunisant de 10000 unités, se montre nettement préventif et curatif chez le cobaye.

Van Ermenghem n'a pu retrouver le *Bacillus botulinus* nulle part dans le milieu extérieur, ni dans la terre, ni dans le fumier, le purin, les matières fécales de beaucoup d'animaux. Kempner l'aurait rencontré dans des excréments de porc.

BACILLUS CHOLERAE GALLINARUM Pasteur.

(*Microbe du choléra des poules.*)

Atlas de microbiologie, pl. XXIII.

Le choléra des poules peut être considéré comme le type d'une série d'infections sévissant sur un grand nombre d'espèces animales, surtout domestiques, et aussi, semble-t-il, sur l'homme lui-même, présentant entre elles, tant au point de vue de l'agent de contage qu'à celui de la symptomatologie, des rapports évidents qui conduisent dès lors à les rapprocher, à en former un groupement paraissant de plus en plus homogène à mesure que les connaissances se précisent.

Hueppe (2), dès 1886, frappé des grandes ressemblances que présentent entre eux les microbes du *choléra des poules*, de la *pneumo-entérite du porc*, de la *peste porcine*, de la *septicémie spontanée du lapin*, de la *septicémie des furets*, de la *septicémie des bovidés et des animaux sauvages* et de quelques autres affections similaires, et de la similitude des infections expérimentales déterminées par eux chez les animaux d'expériences, surtout le lapin, le cobaye, la souris, a émis, dès 1886, l'idée que toutes ces affections ne constituent que de simples modalités d'un même type pathologique, la *septicémie hémorragique*. Il faut y ajouter aujourd'hui les microbes que l'on reconnaît comme agents d'autres affections similaires, entre autres le *Barbone* du buffle, l'*influenza* ou *fièvre typhoïde* du cheval.

Toutes ces affections seraient tributaires d'un même microbe, la *Bactérie ovoïde* de Nocard et Leclainche (3), qui est en somme le *Microbe du choléra des poules* de Pasteur.

Les différences morphologiques sont en réalité minimes ; on peut s'en convaincre facilement. L'action physiologique a bien des points communs, et les différences observées peuvent aisément être mises sur le compte de variations très admissibles dans les propriétés biologiques du microbe. L'étude clinique de toutes ces affections montre entre elles de nombreuses analogies. Il y a là en somme de quoi constituer au moins un véritable groupe des *septicémies hémorragiques*, qui semble

(1) Kempner, Weiterer Beitrag zur Lehre von der Fleischvergiftung (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVI, 1897, p. 481). — Kempner et Schepilewsky, Ueber antitoxische Substanzen gegenüber dem Botulismusgift (*Ibid.*, XXVII, 1898, p. 213).

(2) Hueppe, *Berlin. klin. Wochenschr.*, XXIII, 1886.

(3) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux, 2e éd., 1898, p. 1

bien naturel, tout comme le groupe des espèces du type *Colibacille* qui a été étudié précédemment.

Le microbe en question est la cause de la maladie épidémique connue sous le nom de *Choléra des poules*, qui peut occasionner de très grands ravages dans les basses-cours. Elle atteint toutes les volailles, poulets, dindons, faisans, canards, oies, et ne semble épargner aucune race. La présence presque constante de diarrhée et l'extrême contagiosité lui ont fait attribuer la dénomination de choléra ; les poulets fournissant d'ordinaire le plus fort contingent des victimes, le nom de *Choléra des poules* est entré dans les habitudes et a été conservé.

Perroncito (1), en 1878, avait cru pouvoir attribuer la maladie à des *Micrococcus* qu'il avait observés dans le sang des poules atteintes. Toussaint (2), l'année suivante, a confirmé cette découverte. Enfin, en 1880, Pasteur (3) a étudié la question dans ses moindres détails et résolu les plus intéressants problèmes de son étiologie et de sa prophylaxie. C'est l'étude de ce microbe qui l'a conduit à ses premières constatations des phénomènes de l'atténuation des virus et de leur transformation en vaccin.

La maladie est en général facile à reconnaître ; en mettant même à part son caractère épidémique et la rapidité habituelle de son dénouement, l'examen des individus malades fournit des signes non équivoques. Une poule atteinte est sans forces, chancelante ; ses ailes traînent sur le sol ; ses plumes se hérissent ; elle prend la forme en boule. Souvent, une somnolence invincible l'accable ; la mort peut arriver en cet état, en peu de temps, sans que l'animal change de place. D'autres fois, l'oiseau est inquiet, agité de temps en temps de secousses convulsives. On observe presque toujours une diarrhée claire, muqueuse. La mort arrive d'habitude en vingt-quatre ou trente-six heures, parfois seulement après une semaine.

Il existe des cas foudroyants où l'animal meurt en quelques heures, même avant qu'on ait pu s'apercevoir de la maladie. A l'autopsie, on trouve de très grands désordres. Le foie est volumineux, jaunâtre, marbré, très friable ; la rate tuméfiée, molle. L'intestin est souvent plein d'un liquide séreux ; la muqueuse est congestionnée et souvent ulcérée par places. Le cerveau et les poumons présentent souvent des ecchymoses ; le sang du cœur est noir, poisseux ; les muscles ont leur apparence normale. Le sang et le liquide de la diarrhée renferment une grande quantité des Bactéries spéciales dont la découverte a été signalée plus haut.

Le diagnostic de la maladie se fait souvent facilement par le simple examen microscopique du sang, après coloration ou même sans coloration ; on y trouve en abondance l'agent spécifique au milieu des globules sanguins. La mise en cultures et l'inoculation donnent également de très bons résultats.

(1) Perroncito, Ueber das epizootische Typhoide der Hühner (*Arch. für wiss. und prackt. Thierkeilkunde*, 1879, p. 22).

(2) Toussaint, Sur le choléra des oiseaux de basse-cour (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XC, 1880, p. 428).

(3) Pasteur, Sur les maladies virulentes et en particulier sur la maladie appelée vulgairement choléra des poules (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XC, 1880, p. 239, 952 et 1030) ; et : De l'atténuation du virus du choléra des poules (*Ibid.*, XCI, 1881, p. 673).

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les Bactéries observées sont de courts bâtonnets, immobiles, réunis par deux, rarement plus. Pasteur les considère comme normalement sphériques et semble admettre que les individus allongés ou parfois légèrement étranglés en leur milieu (fig. 270) sont des éléments en voie de bipartition ; ce sont pour lui des *Micrococcus* ayant de 0,2 μ à 0,3 μ de diamètre. Actuellement, Babès (1) et la plupart des auteurs en font au contraire de vrais Bacilles ayant 1 μ à 1,2 μ de long sur 0,25 μ à 0,60 μ de large ; cependant, cette forme en bâtonnets pourrait donner des éléments plus ou moins arrondis dans certaines cultures et parfois de courts filaments. On n'observe jamais de formation de spores.

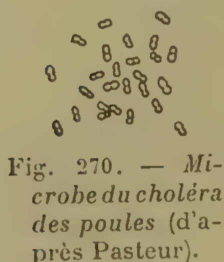


Fig. 270. — *Microbe du choléra des poules* (d'après Pasteur).

Coloration. — Ces Bactéries se colorent très facilement avec les diverses couleurs d'aniline ; la solution de Loeffler donne d'excellents résultats.

Elles se *décolorent* par les méthodes de Gram ou de Weigert.

Dans le sang ou les tissus, la thionine colore les microbes en violet rouge, les noyaux et le protoplasma autrement ; en ne décolorant que lentement, on arrive à laisser les microbes colorés seuls.

La couleur se fixe d'ordinaire surtout aux deux extrémités des bâtonnets, laissant un espace central non coloré, d'où l'apparence de diplocoque que donne chaque bâtonnet (fig. 271).

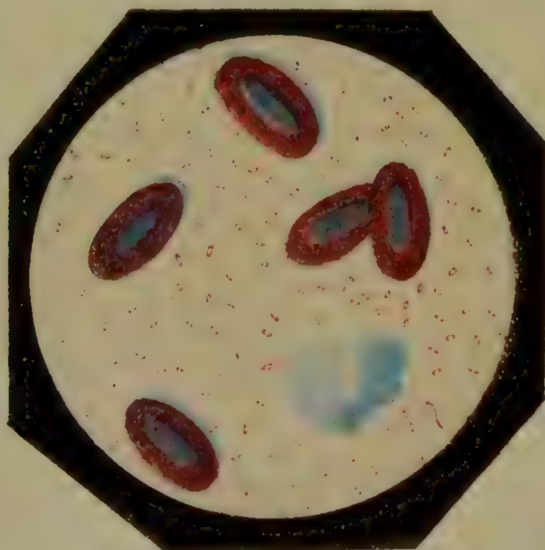


Fig. 271. — *Bacille du choléra des poules* dans le sang de la poule.

Cultures. — Le *Bacille du choléra des poules* se cultive facilement, bien que montrant plus d'exigences vis-à-vis des milieux nutritifs que beaucoup d'autres espèces pathogènes. C'est un aérobie vrai ; bien que se contentant de quantités très minimes d'oxygène, il ne croît pas en l'absence de ce gaz.

(1) Babès, Observations sur le Bacille du choléra des poules (*Arch. de phys.*, 1883).

Cultures sur plaques de gélatine. — En culture sur plaques, il forme, au bout de trois jours, dans la gélatine, de toutes petites colonies blanchâtres qui n'arrivent que très lentement à la surface. Elles s'y étalent en petits disques irréguliers, jaunâtres, granuleux, dont la surface laisse voir souvent des stries concentriques. Elles grandissent peu, probablement à cause de la basse température à laquelle on doit maintenir les cultures.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* sur gélatine, il se forme dans le canal un grand nombre de petites colonies sphériques, contiguës, donnant une tige blanche, mince, et à la surface une mince gouttelette à bords irréguliers, blanchâtre, un peu transparente (fig. 272). La gélatine n'est jamais liquéfiée.



Fig. 272. — *Bacille du choléra des poules.* Culture en piqûre sur gélatine.

Cultures sur gélose et sur sérum. — Sur gélose et sérum, en strie, on obtient une bande mince, d'un blanc brillant.

Cultures sur pommes de terre. — Sur pommes de terre, il donne, mais seulement en étuve à 30-37°, une pellicule minime, un peu transparente, jaunâtre, ressemblant à une mince couche de cire.

Cultures dans le bouillon. — Le liquide se trouble légèrement, il laisse déposer un sédiment minime.

Cultures dans le lait. — Le lait est régulièrement coagulé.

Cultures dans d'autres milieux. — Le microbe croît très mal ou pas du tout dans les milieux peu nutritifs, les milieux minéraux en particulier.

Propriétés biologiques.

La vitalité paraît en général assez faible. La dessiccation tue vite le microbe ; il périt vite à 58° ; sa résistance aux antiseptiques est peu marquée.

A l'air, la virulence se perd vite ; à l'abri de l'air, elle peut se conserver longtemps. Dans le sol humide, le virus peut se conserver plusieurs mois, peut-être à cause des aérobies qui le protègent contre l'oxygène ; il peut se conserver un mois dans l'eau ordinaire.

Dans les milieux de culture, il paraît se former des acides aux dépens des hydrocarbonés ; on n'observe cependant pas de dégagement de gaz.

Les cultures dans les milieux peptonisés donnent la réaction de l'indol ; il doit s'y former également une petite quantité d'acide phénique. Il se produit aussi de l'hydrogène sulfuré.

Pasteur a reconnu la présence, dans les liquides de culture, d'un principe sécrété par la Bactérie, auquel on doit rapporter certains symptômes tout particuliers à cette maladie épidémique, entre autres la tendance au sommeil si marquée chez tous les individus infectés. En filtrant le bouillon à travers une bougie de porcelaine dégourdie, on le prive de toute cellule ; une goutte inoculée à du bouillon préparé le laisse indéfiniment stérile. Cependant, si l'on injecte de ce liquide filtré à une poule neuve, elle montrera au bout de très peu de temps la

somnolence si caractéristique des poules malades: le sommeil est toutefois plus léger que celui de la maladie naturelle. La Bactérie produit donc pendant sa vie une substance narcotique à laquelle on doit rapporter certains phénomènes observés pendant la période d'état de l'affection primitive. De plus, il y a une indépendance absolue entre l'effet de ce narcotique et le véritable effet nuisible de l'espèce, car Pasteur a prouvé que l'extrait d'une culture filtrée endort les poules vaccinées au maximum, complètement réfractaires aux inoculations les plus virulentes.

Inoculation expérimentale.

La maladie se transmet par inoculation du sang d'une poule malade ou de la substance d'une culture fraîche. Tous les oiseaux de basse-cour sont très sensibles à l'inoculation, surtout la poule et le pigeon; les petits oiseaux s'infectent aussi très facilement. Il en est de même des oiseaux sauvages congénères. Les symptômes observés dans la maladie naturelle se déroulent rapidement et la mort arrive d'ordinaire avant le deuxième jour. Il suffit de doses extrêmement minimes pour amener l'infection, comme l'a bien montré Voges (1).

Les symptômes sont ceux d'une véritable septicémie. Au point d'inoculation, il se produit un œdème plus ou moins prononcé, dont la sérosité renferme beaucoup de microbes. On trouve un très grand nombre de microbes dans le sang de toutes les parties du corps. L'intestin est le siège d'une véritable entérite hémorragique; les poumons présentent des noyaux de pneumonie; le foie est souvent hypertrophié, friable; la rate peut être tuméfiée ou normale. Le péricarde renferme une sérosité limpide. Le cœur est ramolli et a l'aspect lavé, jaunâtre; il renferme un peu de sang noir, coagulé. Les muscles ne sont pas altérés quand la maladie a évolué rapidement; dans les cas subaigus, ils sont pâles, lavés.

Avec des virus très actifs, la mort survient rapidement; on ne trouve pas de lésion locale.

Les passages successifs dans des organismes réceptifs augmentent notablement la virulence.

Dans les cultures faites en présence d'air, la virulence diminue graduellement; après quelques semaines, leur inoculation ne produit plus que des accidents locaux; après soixante jours, elles sont complètement inoffensives.

Les cultures de huit à quinze jours ont une virulence très atténuée; elles ne produisent la plupart du temps que des phénomènes purement locaux, parfaitement étudiés par Pasteur. Après inoculation d'un de ces bouillons atténués dans le tissu conjonctif sous-cutané qui recouvre l'épaisse masse musculaire pectorale, il se produit une inflammation du tissu conjonctif et d'une partie du muscle. Le muscle se tuméfie, durcit et blanchit, devient lardacé; examiné à ce moment, il est infiltré de Bactéries, qui paraissent plus longues que celles du sang; il se dissocie très facilement. La partie altérée se sépare de la partie saine par une membrane formée de tissu embryonnaire, elle se mortifie et forme

(1) Voges, Kristische Studien und experimentelle Untersuchungen über die Bakterien der hämorrhagischen Septicämie und die durch sie bewirkten Krankheitsformen (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIII, 1896, p. 149).

un séquestre. Dans les cas de guérison, la partie nécrosée se résorbe plus ou moins vite ; en quelques semaines ou quelques mois, l'animal est parfaitement guéri. Ce résultat peut être plus rapidement atteint en enlevant le séquestre. Le fait le plus curieux et le plus intéressant pour la pratique est que les poules ainsi traitées sont, après guérison, absolument réfractaires aux inoculations des cultures les plus virulentes ou de sang d'autres poules qui viennent de succomber à la maladie ; elles sont *vaccinées*. L'effet de la vaccination est d'autant plus sûr que la force du vaccin est plus grande et par conséquent que la maladie qui a suivi l'inoculation a été plus grave.

L'effet atténuateur est dû à l'oxygène qui affaiblit peu à peu la virulence et finit même par l'éteindre complètement. L'action retardatrice se fait même sentir sur la végétation, qui est moins abondante dans les cultures atténuées que dans les cultures plus virulentes. Elle n'est due en aucun cas à l'âge avancé de la culture, lorsqu'on évite l'action trop forte de l'air ; une culture peut conserver sa virulence pendant un temps très long, quand elle n'a à sa disposition qu'une quantité très minime d'oxygène, en tube scellé par exemple. D'un autre côté, des cultures répétées de jour en jour, qui n'ont alors pas le temps de s'atténuer, gardent indéfiniment le maximum de virulence ; une minime fraction de goutte amène infailliblement la mort en deux ou trois jours et le plus souvent en moins de vingt-quatre heures.

Les cultures atténuées peuvent récupérer de leur virulence en passant par l'organisme du moineau ; au bout de cinq à six passages, des cultures vaccinales pour la poule deviennent mortelles pour elle.

Pasteur est parvenu à transmettre l'affection à des poules en répandant quelques gouttes de cultures virulentes sur leurs aliments. Les excréments de ces poules font très rapidement périr les poules auxquelles on les inocule. D'où on est en droit de tirer la conclusion que les excréments des animaux malades ont la plus grande part à la contagion dans les basses-cours.

Les lapins et les souris succombent rapidement aux inoculations virulentes ; d'après Pasteur, les lapins pourraient même s'infecter par la nourriture comme les poules, comme l'a prouvé l'expérience de destruction faite dans le clos Pommery, à Reims. Les cobayes, les moutons, résistent beaucoup plus ; l'inoculation n'amène la plupart du temps chez eux qu'une lésion purement locale; il se forme un abcès dans le pus crémeux duquel on rencontre des quantités de Micrococques. En inoculant ce pus à des poules ou des lapins, ces derniers animaux meurent rapidement, tandis que le cobaye porteur peut guérir. Les cobayes peuvent ainsi servir à colporter la maladie sans qu'on s'en aperçoive facilement. Chez le cobaye, l'inoculation intrapéritonéale ou intraveineuse détermine rapidement la mort. Tjaden (1) signale cependant la grande virulence de certain choléra des poules pour le cobaye, même en inoculation sous-cutanée.

Les chiens et les chats ont mangé impunément des poules mortes. D'après Marchiafava et Celli, lorsque du sang virulent ou une culture virulente sont mis en contact avec la peau excoriée de l'homme, il peut se former un petit abcès au point d'inoculation.

(1) TJADEN, Einige Bemerkungen zur Empfanglichkeit der Meerschweinchen gegen den Erreger der Hühnercholera (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 224).

Les œufs des poules peuvent contenir le virus; il s'ensuit une infection de l'embryon et du poussin, comme l'a démontré Barthélemy (1).

La contagion se fait par l'intermédiaire de l'homme ou d'autres animaux, voire même des insectes. Les pigeons, très sains en apparence, peuvent fort bien transporter le contage; Gamaléia (2) a trouvé deux fois le *Bacille du choléra des poules* dans l'intestin de pigeons sains, ce qui tendrait à faire penser que le microbe peut vivre ainsi en saprophyte commensal et n'acquérir une grande virulence que sous certaines influences.

Klein (3) a décrit, sous le nom de *Bacillus gallinarum*, une Bactérie qui n'est très probablement pas à différencier de celle de Pasteur. Les symptômes de la maladie très contagieuse qu'elle détermine sont voisins de ceux du choléra des poules typique, sauf la somnolence qui paraît toujours manquer. Les cultures sont également très semblables; les dimensions moyennes qu'il attribue aux bâtonnets des cultures sont de 0,3 à 0,4 μ de largeur sur 0,8 à 1,6 μ de long.

C'est certainement le même microbe que Lucet (4) donne comme l'agent de la *dysenterie épizootique des poules et des dindes*.

Cornil et Toupet (5) ont étudié une affection épidémique développée sur les canards du Jardin d'acclimatation à Paris et présentant certaines analogies avec le choléra des poules; ils l'ont décrite sous le nom de *choléra des canards*. La maladie est caractérisée par de la diarrhée, un affaiblissement progressif tel que les animaux ne pouvaient plus se tenir sur leurs pattes et mouraient après avoir présenté des tremblements musculaires.

A l'autopsie, les canards présentent une forte congestion des viscères, particulièrement du foie, et souvent une inflammation des séreuses; le gros intestin est habituellement distendu par un liquide muqueux sanguinolent. Le sang renferme beaucoup de petites Bactéries ovoïdes ou allongées, mesurant de 1 à 1,5 μ de long sur 0,5 μ de large. Elles se colorent facilement, mais perdent toute coloration lorsqu'on les traite par la méthode de Gram.

On en obtient facilement des cultures avec le sang du cœur, le suc de la rate ou du foie.

Cette Bactérie *ne liquéfie pas* la gélatine. En *piqûre*, on observe à la surface une mince pellicule grisâtre et dans le canal une série de petites colonies sphériques.

Sur *gélose*, à 38°, il se forme une série de petites taches lenticulaires, un peu jaunâtres.

(1) Barthélemy, De l'incubation des œufs d'une poule atteinte de choléra (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CXIV, 1882, p. 1322).

(2) Gamaléia, Zur Aetiologie der Hühnercholera (*Centralbl. für Bakt.*, IV, 1888, p. 161).

(3) Klein, Ueber eine epidemische Krankheit der Hühner (*Centralbl. für Bakt.*, V, 1889, p. 689, VI, 1889, p. 257, XVIII, 1895, p. 105).

(4) Lucet, Dysenterie épizootique des poules et des dindes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V, 1891, p. 312).

(5) Cornil et Toupet, Sur le choléra des canards (*Bull. de la Soc. d'acclim.*, juin 1888).

Sur *pomme de terre*, on observe, vers le sixième jour, une plaque jaune-chamois, à bords festonnés. La substance de la pomme de terre prend une coloration brune autour de la culture.

Le *bouillon* se trouble rapidement et abandonne un dépôt pulvérulent blanchâtre.

Les canards inoculés sous la peau avec un produit de cultures succombent rapidement avec les symptômes et les lésions caractéristiques. L'infection s'obtient aussi parfaitement en faisant ingérer des produits de cultures mêlés aux aliments.

Les cultures virulentes possèdent une innocuité complète ou presque complète pour les poules et les pigeons. Ceux qui ont résisté à de telles inoculations ne sont cependant pas vaccinés contre le microbe du choléra des poules.

Les lapins et les cobayes ne sont sensibles qu'à de fortes doses.

C'est tout au voisinage également que doit se placer le *Bacille de la maladie des grouses* de Klein (1).

Ce sont de petits Bacilles mobiles de 0,6 μ à 1,5 μ de long sur 0,4 μ de large. Ils se décolorent par le Gram et se comportent en cultures à peu près comme le Bacille du choléra des poules. Ils déterminent, chez les grouses, une véritable septicémie avec taches ecchymotiques de l'intestin, hypertrophie du foie et des reins, et des Bacilles partout dans le sang.

Il en est de même du *Bacille de la maladie des palombes* de Leclainche (2).

L'affection, observée sur des palombes capturées et mises en volière, a des symptômes très semblables à ceux du choléra des poules vrai. Le microbe isolé présente les mêmes formes, les mêmes réactions colorantes que celui de cette dernière affection ; il se comporte à peu près de même en cultures sur les différents milieux. Virulent pour le pigeon, le lapin, le cobaye, il est sans effet sur la poule, même en injection intraveineuse à la dose de 3 centimètres cubes de bouillon de culture. Il détermine, chez les animaux réceptifs, soit des lésions diffuses de septicémie, soit des dégénérescences caséeuses locales.

Le *Bacille de la septicémie du faisan de Klein* (3), le *Bacille de la septicémie des canaris* de Rieck (4), paraissent plutôt se rapporter au type du *Bacillus coli communis* ou aux espèces similaires.

BACILLE DE LA PNEUMO-ENTÉRITE DU PORC.

ATLAS DE MICROBIOLOGIE, PL. XXV.

Les porcs sont sujets à plusieurs maladies infectieuses qui présentent comme symptômes communs la grande contagiosité et le caractère

(1) KLEIN, Ueber eine akute infectiöse Krankheit des schottischen Moorhühnes (*Centralbl. für Bakt.*, VI, 1889, p. 36, VII, 1890, p. 81, et IX, 1891, p. 47).

(2) LECLAINCHE, Sur une nouvelle septicémie hémorragique, la maladie des palombes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 490).

(3) KLEIN, An acute infectious disease of young pheasants (*Journ. of Path. and Bact.*, 1893).

(4) RIECK, Eine infectiose Erkrankung der Kanarienvögel (*Deutsche Zeitschr. für Thiermed.*, XV, 1889, p. 69).

épizootique, l'apparition à la peau de plaques rouges plus ou moins étendues et la gravité de la maladie qui cause souvent bien des pertes. Elles ont été longtemps confondues sous le nom de *rouget du porc*, à cause surtout de la prédominance en Europe de l'une de ces formes. Plus tard, on a reconnu que l'on confondait sous la même dénomination des types bien distincts. L'un de ces types morbides est celui auquel on a conservé la dénomination de *rouget du porc*, dû à l'infection par une espèce microbienne spéciale qui sera étudiée plus loin (p. 820). Les autres types présentent entre eux des ressemblances beaucoup plus grandes, à tel point que pour les distinguer il faut se baser sur des caractères plutôt secondaires, de telle sorte que l'on peut penser que les différences sont peut-être dues à la grande variabilité que l'on peut constater dans l'agent virulent qui les détermine ou à des conditions de terrain particulières. Pour certains, comme il le sera dit plus loin (p. 814), il n'y a pas lieu d'établir de distinctions fondamentales ; ces affections appartiendraient à un seul et même type pathologique. Pour d'autres, il y a lieu de distinguer au moins deux types différents, dans chacun desquels viennent se grouper des formes morbides qui peuvent avoir reçu des noms différents suivant les régions où on les a observées. L'un de ces types comprend l'affection connue en Angleterre et en Amérique sous les noms de *cholera-hog*, ou *swine-fever*, *swine-pest*. En France, dans ces derniers temps, on l'a décrite sous les noms de *pneumo-entérite*. *choléra du porc*, *pneumonie contagieuse* ou *pneumonie infectieuse*. Les individus atteints succombent la plupart du temps à une pneumonie fibrineuse; d'autres fois, c'est l'intestin qui est surtout atteint ; la mort survient à la suite de complications intestinales rappelant celles de la fièvre typhoïde de l'homme ; c'est la raison des dénominations usitées.

Cette maladie a été étudiée par Schütz (1) et Karlinski (2) en Allemagne sous le nom de *Schweinepest*, Klein (3) en Angleterre sous le nom de *Fowl-cholera* ou *Fowl-enterite*, Salmon (4) en Amérique sous le nom de *hog-cholera*. Cornil et Chantemesse (5), Sélander (6), Silberschmidt (7), Smith et Moore (8), en ont fait l'objet de recherches plus complètes.

L'affection, presque toujours mortelle, dure dix à trente jours; dans les cas très graves, elle peut se terminer beaucoup plus vite et emporter l'animal en peu d'heures. Elle débute par une grande fatigue, une diminution de l'appétit et un amaigrissement rapide. Puis la fièvre se

(1) SCHUTZ, Ueber die Schweineseuche (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, p. 376).

(2) KARLINSKI, Experimentelle Untersuchungen über Schweinepest und Schweineseuche (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVIII, 1898, p. 373).

(3) KLEIN, Die Bacterien der Schweineseuche (*Virchow's Archiv*, XCV, 1884).

(4) SALMON, Repert of the commissionner of agricultur for 1886, p. 659.

(5) CORNIL et CHANTEMESSE, La pneumo-entérite des porcs (*Journ. de l'anat.*, XXIV, 1888, p. 618) ; et : Propriétés biologiques et atténuation du virus de la pneumo-entérite du porc (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 19 décembre 1887 et 27 février 1888).

(6) SÉLANDER, Contribution à l'étude de la maladie infectieuse des porcs connue sous les noms de hog-cholera, swine-pest, pneumo-entérite infectieuse (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1890, p. 545).

(7) SILBERSCHMIDT, Contribution à l'étude de la swine-plague, du hog-cholera et de la pneumo-entérite des porcs (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 65).

(8) SMITH et MOORE, Nouvelles recherches sur les maladies infectieuses du porc (*Bureau of animal Industry*, 1894, analysé in *Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 671).

déclare, et la toux apparaît ; les animaux sont souvent pris d'une diarrhée muqueuse, fétide, qui peut être remplacée par de la constipation, lorsque l'affection se porte principalement sur le poumon. La peau peut présenter des plaques rouges, surtout aux oreilles et aux pattes ; c'est ce qui faisait songer à une variété du rouget. La forme pulmonaire est d'habitude mortelle ; la forme intestinale laisserait plus d'espoir ; d'après les expériences de Rietsch, Jobert et Martinaud (1), l'administration de sous-nitrate de bismuth donnerait alors de bons résultats.

A l'autopsie, la rate, le foie, les reins, sont d'ordinaire sains ; les lésions affectent surtout les poumons et l'intestin. Les poumons sont le siège d'une pneumonie fibrineuse ; l'intestin est fortement injecté, les plaques de Peyer sont très tuméfiées ; il existe souvent de nombreuses ulcérations.

Morphologie. — Le sang, l'exsudat du poumon, le suc du foie et de la rate, renferment, souvent en abondance, le microbe regardé comme spécifique.

Caractères microscopiques. — Ce sont des Bactéries courtes, de



Fig. 273. — Bacille de la pneumo-entérite du porc. Ganglion mésentérique d'un porc. 1000/1.

forme ovoïde, à extrémités arrondies, mesurant de 1 μ à 1,5 μ de long sur 0,3 à 0,6 μ de large (fig. 273). Immobiles dans les liquides organiques, elles montrent des mouvements très évidents dans les cultures en bouillons ; Ferrier (2) leur décrit de 4 à 7 cils très longs, de 35 à 50 μ, disposés tout autour des éléments. Elles ne paraissent pas former de spores.

Coloration. — Elles se colorent facilement aux couleurs d'aniline,

(1) Rietsch, Jobert et Martinaud, Sur l'épidémie des porcs à Marseille en 1887 (*Soc. de Biol.*, 21 janvier 1888).

(2) Ferrier, Cils vibratiles et mouvements du microbe de la pneumo-entérite infectieuse du porc ou hog-cholera (*Lyon méd.*, 1894, p. 179).

surtout aux deux pôles, et se *décolorent* par la méthode de Gram.

Cultures. — Les cultures s'obtiennent facilement avec le suc des organes malades. Ce Bacille est aérobie, mais peut se développer quand même en l'absence d'oxygène.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* sur gélatine, il se forme dans le canal de petites colonies blanchâtres, et à la surface une mince couche brillante, parfois une culture en clou; la gélatine *n'est pas liquéfiée.* En *strie*, il se développe à la surface une tache transparente plus ou moins épaisse; lorsque les colonies sont clairsemées, on obtient des cercles concentriques reliés entre eux par de fins tractus découpés en dentelle, formant une plaquette finement ciselée.

Cultures sur gélose. — Il se produit une couche laiteuse bordée d'une sorte de dentelle.

Cultures sur pomme de terre. — La végétation est assez abondante; elle donne une couche grisâtre ou brunâtre assez épaisse.

Cultures dans le bouillon. — Les cultures se font très bien dans le bouillon, sans présenter de caractères particuliers. Le liquide se trouble et se recouvre parfois d'un mince voile très fragile. Elles se développent bien dans du bouillon contenant 7,5 p. 100 de sel marin ; la salaison n'a donc pas d'action sur le virus.

Cultures dans le lait. — Le milieu n'est pas modifié et a une réaction alcaline.

Les cultures donneraient la réaction de l'indol, sauf celles des microbes isolés par Klein.

Avec certains types, il ne se produit pas de fermentation aux dépens des sucres ; d'autres, le Bacille de Salmon par exemple, en font fermenter quelques-uns. Ce caractère ne paraît pas avoir l'importance que lui attribuent Voges et Proskauer (1).

Inoculation expérimentale. — Les cultures sont virulentes. L'injection dans le poumon détermine chez le porc une affection rappelant la maladie primitive, causant la mort comme celle-ci, avec symptômes pulmonaires ou intestinaux. Les mêmes cultures tuent en peu de jours les lapins, les cobayes et les souris ; les pigeons sont plus résistants. Le veau et la poule seraient réfractaires. La contamination peut se faire en mélangeant du produit de culture aux aliments ; la durée de l'incubation paraît alors être plus longue.

Les symptômes observés sont ceux d'une septicémie tantôt à marche aiguë, véritable septicémie hémorragique, tuant l'animal en peu de jours, tantôt chronique, à échéance plus longue.

Le microbe paraît agir par l'intermédiaire de toxines qu'il sécrète.

Immunité et sérothérapie. — Les animaux qui ne succombent pas à une première atteinte de la maladie offrent une véritable immunité ; aussi a-t-on songé tout de suite à recourir à la vaccination. Le procédé de vaccination pastorienne contre le rouget, appliqué au début, lorsqu'on croyait à l'identité des affections, n'a pas réussi ; cela se conçoit, vu la différence des deux affections. La virulence augmente

(1) Voges et Proskauer, Beitrag zur Ernährungsphysiologie und zur Differenzialdiagnose der Bakterien der hämorrhagischen Septicämie (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVIII, 1898, p. 20).

par passage dans l'organisme. Cornil et Chantemesse annoncent avoir réussi à obtenir des virus atténués pouvant conférer l'immunité nécessaire, en faisant agir simultanément l'air et la chaleur, un chauffage à 43° pendant quatre-vingt-dix jours. Sélander obtient l'immunité chez le lapin et le pigeon en inoculant du sang stérilisé par son exposition, pendant une demi-heure à une heure, à une température de 55 degrés. Cet effet serait dû à une toxine sécrétée dans le sang par le microbe. La substance toxique commence à s'altérer, par la chaleur, à 60° ; c'est probablement une matière albuminoïde.

Metschnikoff (1) a réussit à immuniser des lapins par injection de doses faibles de virus ; il a observé que le sérum de ces lapins vaccinés était immunisant pour le lapin.

Schweinitz (2) dit avoir pu immuniser des porcs et obtenu un sérum nettement préventif et curatif.

Habitat et rôle étiologique. — Le porc est à peu près seul affecté. On signale, mais sans preuves suffisantes, la transmission au mouton et au bœuf. Quelques observations paraissent démontrer la nocivité pour l'homme de la viande de porcs atteints de cette affection. Pouchet (3) attribue au microbe de cette affection une épidémie d'intoxication par de la viande de porc.

D'après Rietsch (4), cette même espèce causerait, chez les poules, une maladie épidémique très grave, dont les symptômes seraient une congestion ou une hépatisation des poumons et une forte inflammation de la muqueuse intestinale.

Enfin, suivant Galtier, cette même affection pourrait être transmise du porc au mouton et à la chèvre et occasionner dans les troupeaux des épidémies meurtrières, plus graves même que celles que l'on observe sur les porcs. Les principaux symptômes sont des rougeurs qui apparaissent sur les régions fines de la peau, des signes de pneumonie et d'entérite. Les chiens de berger seraient également réceptifs. Ce même auteur aurait même transmis expérimentalement cette pneumo-entérite aux bovidés et au cheval.

Pour quelques-uns, certaines épidémies qui sévissent sur le gibier (*Wildseuche*) seraient également occasionnées par le même microbe.

BACILLE DE LA PESTE PORCINE.

Le second type de ces affections du porc à *Bactérie ovoïde* serait la *peste porcine*, maladie commune en Allemagne, où on la désigne sous le nom de *Schweineseuche* (5), et en Amérique où on l'appelle *Swine-plague*.

Il semble bien que l'on ait affaire, dans ces deux cas, à la même

(1) Metschnikoff, Immunité des lapins vaccinés contre le microbe du hog-cholera (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 289).

(2) Schweinitz, The production of immunity to hog-cholera (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 573).

(3) Pouchet, Bactériologie appliquée à la médecine légale (*Ann. d'hygiène*, mars 1897).

(4) Rietsch, Sur une épidémie des poules (*Soc. de Biol.*, 10 mars 1888).

(5) Schutz, Ueber die Schweineseuche (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1886, p. 376). — Karlinski, *loc. cit.*, p. 810.

affection, bien que Raccuglia (1) prétende qu'on doive les séparer. Les différences signalées ne sont en effet que secondaires, quantitatives ; les propriétés fondamentales des microbes isolés paraissent être identiques. Il y a même plus ; bien des expérimentateurs, Silberschmidt (2) le premier, considèrent les affections du porc dont il vient d'être parlé précédemment, pneumo-entérite, hog-cholera, swine-pest, comme produites, ainsi que la peste porcine, la swine-plague, la schweinseuche, par un seul et même agent microbien, n'étant que des modalités un peu différentes d'une même infection dont les caractères soi-disant distinctifs dépendraient à la fois de l'état de virulence du germe et des conditions du terrain. On doit reconnaître que les faits connus plaident fort en faveur de cette solution. Nous avons même rencontré des tentatives de plus grande généralisation (p. 802).

La Bactérie de la *Schweineseuche* est en courts bâtonnets à extrémités arrondies, ou en formes ovales ou presque arrondies, surtout dans les cultures (fig. 274). Ces éléments sont toujours immobiles. Ils se colorent difficilement aux couleurs d'aniline et se *décolorent* par la méthode de Gram.

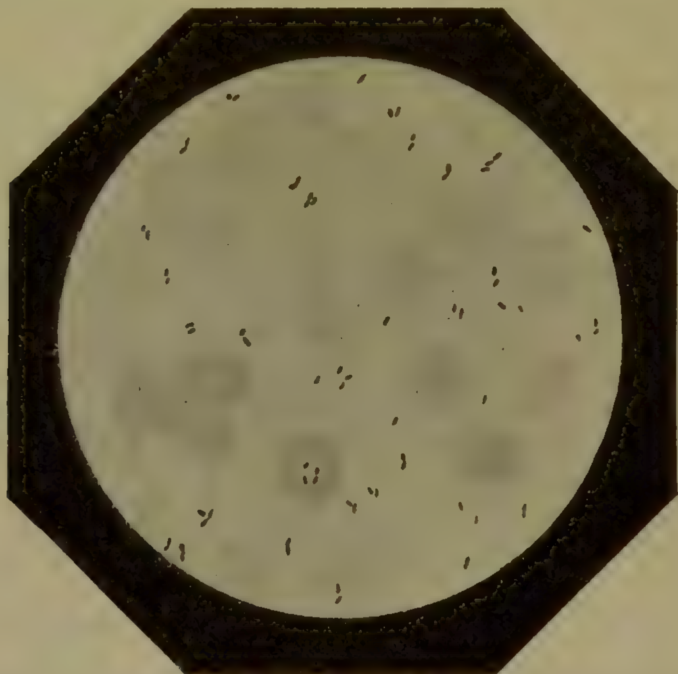


Fig. 274. — Bacille de la peste porcine. Sang de lapin. 1000/1.

Les cultures sont peu abondantes et ne croissent que lentement. En piqûre sur gélatine, il ne se développe que très peu de chose dans le canal et une petite culture blanchâtre, à bords déchiquetés, à la surface ; la gelée n'est pas liquéfiée. Sur gélose on obtient, le long de la strie, une colonie opaque, blanche.

Les poulets inoculés meurent en vingt-quatre heures ; le sang du cœur donne facilement des cultures.

(1) Raccuglia, Ueber die Bacterien der americanischen Swine-plague und der deutschen Schweineseuche (*Centralbl. für Bakt.*, VIII, 1890, p. 289).

(2) Silberschmidt, Contribution à l'étude de la swine-plague, du hog-cholera et de la pneumo-entérite des porcs (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 65).

Chez le lapin, on obtient une forte réaction locale, un gonflement du tissu cellulaire sous-cutané et du muscle sous-jacent avec un œdème sanguinolent. A la suite d'inoculation intra-intestinale, l'animal meurt de péritonite en deux à six jours ; la muqueuse intestinale ne présente aucune lésion.

Les porcs résistent aux inoculations sous-cutanées, aux injections intrapéritonéales et à l'absorption intestinale. Les souris et les pigeons périssent sans rien offrir de spécial. Les rats blancs sont réfractaires.

D'après Billings (1), les Bacilles de la *Swine-plague* d'Amérique sont de courts bâtonnets très mobiles, prenant très peu les couleurs d'aniline et se décolorant par la méthode de Gram.

Les cultures sur gélatine se développent surtout dans le canal de la piqûre où il se forme des granulations blanc jaunâtre, émettant des tractus filamenteux ; à la surface, on ne remarque rien ou presque rien. Sur gélose, il se développe une bande opaque, d'un blanc grisâtre. Le bouillon se trouble en vingt-quatre heures.

Les poulets résistent à l'inoculation des matières virulentes. Les lapins ne montrent aucune réaction au lieu de l'inoculation ; leur foie est gros, gorgé de sang, et présente, à la surface et sur les coupes transversales, un grand nombre de petites nodosités inflammatoires d'un jaune rougeâtre, de la grosseur d'une tête d'épingle.

Les porcs résistent aux inoculations sous-cutanées et intrapéritonéales, ainsi qu'à l'ingestion d'aliments contaminés. Deux porcs, auxquels Billings avait injecté de la matière virulente dans l'intestin grêle, sont morts en cinq jours. Les plaques de Peyer étaient tuméfiées ; la muqueuse de tout l'intestin présentait les mêmes lésions que dans la dysenterie humaine ; les ganglions mésentériques étaient considérablement hypertrophiés.

On voit que ces affections, très importantes à connaître, nécessitent encore de nouvelles recherches.

Les différences paraissent ici très minimes. La mobilité peut varier ; nous avons vu que le microbe de la pneumo-entérite était tantôt mobile, tantôt immobile, suivant les conditions dans lesquelles il se trouvait. Les petites différences observées dans les résultats de l'inoculation aux animaux peuvent fort bien simplement tenir à de légères variations dans la virulence du microbe employé.

Silberschmidt a du reste nettement obtenu chez le lapin la vaccination réciproque par les produits solubles des microbes isolés de la swine-plague, du hog-cholera et de la pneumo-entérite, ce qui est encore une bonne raison de plus en faveur de leur identité. Schweinitz a aussi obtenu l'immunité à l'égard de la swine-plague avec de son sérum de porcs vaccinés contre le hog-cholera.

BACILLE DE LA SEPTICÉMIE SPONTANÉE DES LAPINS.

Smith (2) a décrit ce microbe en 1887 comme cause d'une septicémie spontanée qui a sévi sur les lapins de son laboratoire. Thoinot et

(1) Billings, *American Naturalist*, mars 1890.

(2) Th. Smith, A contribution to the study of the microbe of Rabbit septicœmia (*The Journ. of comp. Med. and Surg.*, VIII, 1887, p. 24).

Masselin (1) ont étudié la même maladie en 1888, sévissant sur les lapins de l'École d'Alfort.

Le lapin atteint est fatigué, paresseux ; il s'isole dans un coin de la niche et reste pelotonné, le poil hérissé, les oreilles tombantes. L'appétit disparaît, il survient une diarrhée liquide, l'animal est dans une torpeur profonde à laquelle succède un véritable coma ; il meurt souvent sans faire de mouvements. La maladie peut évoluer en vingt-quatre heures ou moins, ou se prolonger quelques jours ; l'issue est toujours fatale.

A l'autopsie, on constate des lésions de septicémie. La face interne de la peau est fortement congestionnée, rougeâtre ; les muscles sont foncés, friables ; la cavité péritonéale renferme un exsudat tantôt louche, purulent ou sanguinolent, tantôt limpide, jaune. Les intestins sont très congestionnés. La rate et le foie sont peu modifiés ; les poumons sont rouges, congestionnés ; l'urine renferme beaucoup d'albumine. Toutes ces parties sont virulentes et renferment, en plus ou moins grand nombre, les microbes particuliers. On en trouve d'ordinaire assez facilement dans le sang.

Ce sont de petits Bacilles ovoïdes, très semblables à ceux du choléra des poules, pouvant parfois presque simuler des coccus ou des diplocoques (fig. 275). Dans le sang, ils sont isolés ou réunis par deux ; dans la rate ou le foie, ils forment souvent des chaînettes de trois à six éléments. Ils sont nettement mobiles.

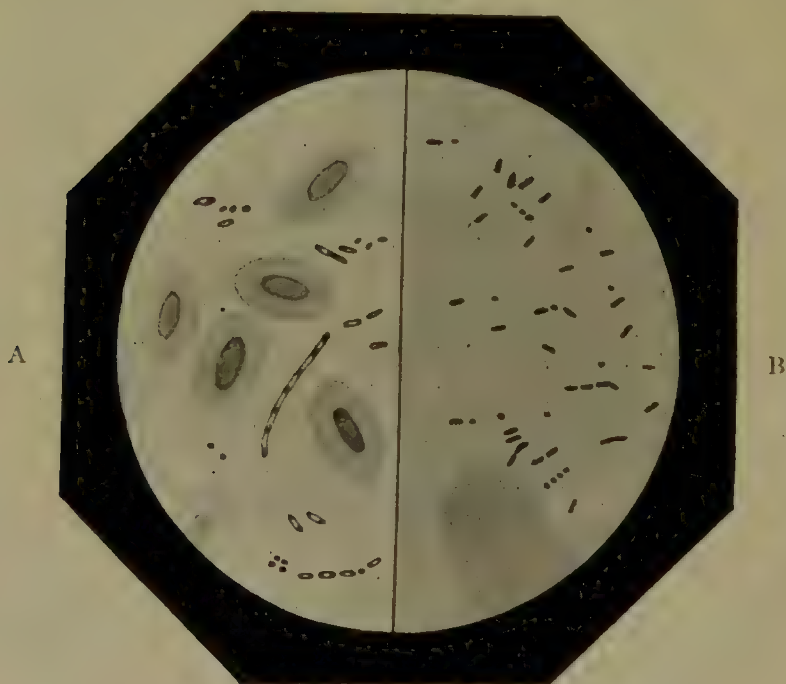


Fig. 275. — Bacille de la septicémie spontanée du lapin.
A, dans le sang du moineau ; B, dans le raclage du foie (d'après Thoinot et Masselin).

Ils se colorent aisément aux couleurs d'aniline et souvent seulement aux deux pôles, laissant un espace clair médian, comme le *Bacille du choléra des poules*. Ils se *décolorent* par la méthode de Gram.

(1) Thoinot et Masselin, Précis de microbie, 3e éd., p. 355.

Ce microbe se cultive aisément sur les milieux habituels ; il est aérobie ou facultativement anaérobie. Les éléments des cultures sont souvent des diplocoques.

Sur *gélatine*, en piqûre, il se forme à la surface une petite tache blanche, visqueuse, et dans le canal une série de petites colonies rondes en strie, une traînée blanche, à bords dentelés. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur *gélose*, l'aspect est semblable au précédent.

Sur *pomme de terre*, d'après Thoinot et Masselin, il ne se ferait pas de développement ; d'après Eberth et Mandry (1), il s'y formerait un enduit muqueux, jaunâtre.

Dans le *bouillon*, à 37° le trouble apparaît très rapidement en douze heures ; le liquide s'éclaircit peu à peu, en laissant déposer un sédiment blanchâtre. Dans le vide, le trouble ne devient sensible qu'après deux ou trois jours. Le lait devient acide et se coagule. Les cultures donnent la réaction de l'indol.

Les cultures fraîches sont virulentes pour le lapin, le cobaye, la souris, la poule, le pigeon et les autres oiseaux. Laissées au contact de l'air, elles s'affaiblissent graduellement ; au bout de vingt jours, elles ne tuent plus les animaux sensibles. Conservées en tubes scellés, la virulence reste intacte pendant plusieurs mois. La virulence se perd par une exposition à 58° pendant un quart d'heure.

Les lapins inoculés sous la peau présentent les mêmes symptômes que ceux observés dans l'infection spontanée. Ils meurent en vingt-quatre heures ou deux ou trois jours ; on observe parfois une marche plus lente, chronique, qui se termine quand même par la mort.

A l'autopsie, le sang est noir, les intestins et les poumons fortement congestionnés ; les cavités pleurales et péricardiques contiennent une sérosité plus ou moins abondante, souvent rougeâtre ; le foie et la rate sont peu altérés.

L'inoculation intraveineuse ou intrapéritonéale, l'ingestion, déterminent les mêmes accidents.

La réceptivité du cobaye et de la poule semble varier suivant la provenance du microbe.

BACILLE DE LA SEPTICÉMIE DES FURETS.

Eberth et Schimmelbusch (2) le décrivent comme l'agent d'une affection épizootique sévissant sur les furets et les lapins sauvages.

Les animaux atteints sont déprimés, ont une diarrhée sanguinolente, maigrissent et meurent la plupart du temps. A l'autopsie, on trouve des lésions congestives de l'intestin et des poumons, une rate grosse et friable.

Ce microbe est très voisin du précédent, appartenant aussi au type *choléra des poules*.

(1) Eberth et Mandry, Die spontane Kaninchenseptikämie (*Virchow's Arch.*, CXXXI, 1890, p. 340).

(2) Eberth et Schimmelbusch, Der Bacillus der Frettchenseuche (*Fortschr. der Med.*, VI, 1888, p. 805). — *Id.*, Ein weiterer Beitrag zur Kenntniss der Frettchenseuche (*Virchow's Arch.*, CXVI, 1889, p. 327).

Ce sont des Bacilles ovoïdes, mobiles, se *décolorant* par la méthode de Gram.

Les cultures sont semblables d'aspect aux précédentes. La culture sur pomme de terre est abondante, gris jaunâtre, muqueuse. Le lait devient acide et se coagule. Les cultures dans le bouillon donnent la réaction de l'indol.

L'inoculation de cultures fraîches tue rapidement le moineau. Le pigeon ne meurt pas sûrement. Chez le lapin, l'inoculation sous-cutanée ne donne qu'une lésion érysipélateuse locale. Le cobaye ne présente qu'une inflammation locale. La poule est tout à fait réfractaire.

BACILLE DE LA SEPTICÉMIE HÉMORRAGIQUE DES BOVIDÉS ET DES ANIMAUX SAUVAGES.

Bollinger (1) a décrit en 1878, sous le nom de *Wildseuche* et de *Rinderseuche*, une affection épizootique sévissant sur les cerfs et les sangliers. Kitt (2) la retrouve plus tard sur les bovidés. D'après Nocard (3), la septicémie hémorragique observée chez le bœuf par Guillebeau (4) doit aussi lui être rapportée.

La maladie se présente sous deux formes. L'une que l'on observe surtout chez les bovidés, la forme *exanthématique*, a une évolution rapide et s'accompagne d'œdèmes superficiels, de gonflement de la langue.

L'autre, forme *pectorale*, se rencontre principalement sur les grands animaux sauvages ; elle se caractérise surtout par des lésions pulmonaires et évolue plus lentement. Dans les deux formes, on trouve des lésions d'entérite hémorragique ; à la dernière, on donne surtout le nom de *pneumo-entérite des bovidés*. La mortalité est considérable.

Le microbe isolé est une Bactérie ovoïde, à peu près identique à celles décrites dans les types qui précèdent. Les cultures sont en tout semblables.

De nombreuses espèces animales sont réceptives à un haut point. Le microbe tue le bœuf, le cheval, le porc, le sanglier, le mouton, le daim, le cerf, le chevreuil, le lapin, la souris, le pigeon et les petits oiseaux. Le cobaye, le lièvre et la poule sont sur la limite de la réceptivité. Le rat, le canard, l'oie paraissent réfractaires.

C'est sans doute la même affection qui a été décrite par Poels (5) sous le nom de *pleuro-pneumonie septique des veaux* et observée en France par Galtier sous le nom de *mal de la courade*. Le *Barbone des buffles*, qui sévit en Italie (6) et en Hongrie (7), paraît aussi dû au

(1) Bollinger, Ueber eine neue Wilde und Rinderseuche, 1878.

(2) Kitt, Mittheilungen über neue Vorkommnisse von Septicemia hemorrhagica in Bayern, 1889.

(3) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux, p. 34.

(4) Guillebeau, Cas de septicémie hémorragique chez le bœuf (*Ann. de micr.*, VI, 1894, p. 195).

(5) Poels, *Fortschr. der Med.*, IV, 1886, p. 388.

(6) Oreste et Armanni, analyse in : *Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, p. 400.

(7) Ratz, Ueber die pathogene Wirkung der Barbonebakterien (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 289).

même microbe ; les porcs pourraient aussi prendre cette affection qui serait peut-être à identifier avec la *Schweineseuche* (1).

BACILLE DE LA SEPTICÉMIE HÉMORRAGIQUE DU CHEVAL.

Il semble aujourd'hui, surtout depuis les travaux de Schütz (2) et de Lignières (3), que les types cliniques désignés en vétérinaire sous les noms d'*influenza du cheval*, de *fièvre typhoïde du cheval*, de *pneumonie infectieuse du cheval*, soient simplement des modalités différentes de l'infection par un même microbe pathogène, très voisin des précédents, rentrant dans la conception de la *Bactérie ovoïde* telle qu'elle a été exposée ci-dessus (p. 802). Actuellement encore, comme les limites du type pathologique sont toujours quelque peu incertaines, il est possible qu'on y fasse rentrer quelques autres manifestations, cliniquement semblables, dues à des infections par des espèces microbiennes autres, le *Colibacille* ou des formes voisines en particulier ; il est besoin d'études plus nombreuses et plus approfondies pour préciser la question.



Fig. 276. — Bacille de la septicémie hémorragique du cheval. Sérosité péritonéale du cobaye (d'après Lignières).

Le microbe spécifique est une courte Bactérie, à extrémités arrondies (fig. 276), très semblable au *Microbe du choléra des poules*, affectant souvent, comme ce dernier, la forme de cocco-bacilles. Les éléments sont immobiles, se colorent bien aux couleurs d'aniline et se *décolorent* par la méthode de Gram.

(1) San Felice, Loi et Malato, Die Barbonekrankheit der Rinder und Schweine in Sardinien (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 33).

(2) Schutz, Ursache der Brutseuche der Pferde (*Arch. für Thierheilk.*, XIII, 1887, p. 27)

(3) Lignières, Étiologie de la fièvre typhoïde du cheval (*Bull. de la Soc. centrale de méd. vét.*, 1897, p. 437).

C'est un aérobie vrai qui se cultive médiocrement sur les milieux habituels.

D'après Lignières, on obtiendrait très difficilement des cultures en portant directement des produits pathologiques du cheval, où ils ne se trouvent qu'en très petit nombre et sont souvent invisibles à l'examen direct.

Il vaut mieux faire à un cobaye une inoculation intrapéritonéale de 4 à 5 centimètres cubes de sang, d'exsudat pleural ou de suc pulmonaire de chevaux atteints. Le cobaye meurt de péritonite. Son exsudat péritonéal peut la première fois contenir le microbe en culture pure ; sinon, on recommence de la même façon.

Sur *gélatine* en piqûre, à 20°, on obtient une minime culture, formée de petites colonies blanchâtres, ne liquéfiant pas le milieu.

Sur *gélose*, une très petite culture semi-transparente.

Sur *pomme de terre*, rien ou à peu près.

Dans le *bouillon*, il se forme un léger trouble et, après plusieurs jours, un dépôt très minime. La réaction du milieu ne change pas.

Dans le *lait*, les microbes se multiplient sans provoquer de coagulation.

Le microbe est pathogène pour le cobaye, le lapin, la souris, le chien, le chat, le porc, le mouton, l'âne, le cheval et peut-être le bœuf.

Le cobaye et le lapin sont tués en vingt-quatre ou quarante-huit heures par l'inoculation sous-cutanée de 1 centimètre cube de bouillon de culture ou de quelques gouttes de l'exsudat péritonéal. On trouve au point d'inoculation un œdème sanguinolent et des lésions générales de septicémie.

Le cheval est très sensible; l'injection intraveineuse de 1 à 2 centimètres cubes d'exsudat péritonéal amène une mort rapide. Les cultures, en inoculation sous-cutanée, donnent un énorme œdème; l'animal peut mourir ; s'il survit, il se fait un gros abcès. Le microbe agit surtout par ses toxines ; ces dernières préparent en outre le terrain pour le *Streptocoque* qui occasionne alors souvent les complications pleurales ou pulmonaires.

La poule et le pigeon sont très résistants; ils ne succombent qu'à l'inoculation intraveineuse de 1 centimètre cube d'exsudat péritonéal. Le rat blanc résiste encore plus ; il supporte très bien l'injection sous-cutanée de un quart de centimètre cube d'exsudat péritonéal.

Les cultures s'atténuent facilement et pourraient servir de vaccin. En immunisant des chevaux, il serait possible d'obtenir un sérum préventif et curatif.

BACILLE DU ROUGET DU PORC.

ATLAS DE MICROBIOLOGIE, PL. XXIV.

On a longtemps confondu sous les noms de *rouget*, *mal rouge*, *rougeole du porc*, *érysipèle du Porc* (*Rothlauf* en allemand), plusieurs affections contagieuses du porc présentant des symptômes voisins, en particulier l'apparition sur la peau de taches rouges plus ou moins étendues, souvent confluentes. On est parvenu à distinguer au moins trois maladies infectieuses bien distinctes occasionnées par le dévelop-

pement dans l'organisme de Bactéries pathogènes nettement différentes ; ce sont le *rouget vrai du porc*, la *pneumo-entérite infectieuse du porc* et le *choléra du porc*.

Le Rouget vrai est caractérisé par l'apparition sur la peau de taches rouges irrégulières, surtout aux oreilles, sur la poitrine, sur le ventre, sur la face interne des cuisses, et par une vive irritation intestinale. Les complications sur les grandes séreuses sont fréquentes. La mort survient soixante-dix fois sur cent environ, tantôt quelques heures seulement après l'apparition des premiers symptômes, le plus souvent après quelques jours, deux à cinq. Les porcelets résistent mieux que les adultes.

A l'autopsie, on trouve une rate volumineuse, gorgée de sang, diffluente ; le foie, tous les organes lymphoïdes congestionnés ; le sang est noir ; la peau présente de nombreuses taches rouges ou violacées, parfois noirâtres. Le sang et le suc des organes renferment de nombreuses Bactéries.

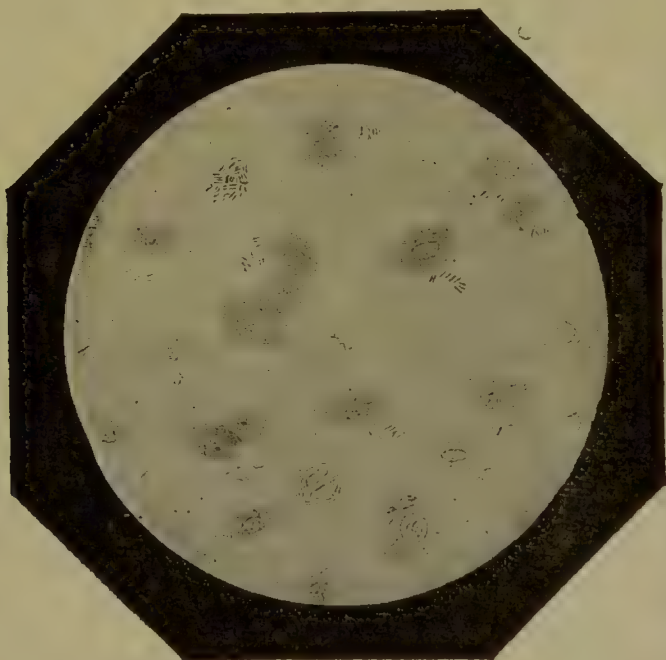


Fig. 277. — Bacille du rouget du porc. Sang de pigeon. 800/1.

Pasteur et Thuillier (1) ont signalé, dans le sang et les exsudations pathologiques de cette maladie du porc, des Bactéries arrondies, en forme de 8 de chiffre, qu'ils ont pu cultiver et dont ils sont arrivés à atténuer la virulence de manière à pouvoir obtenir un vaccin. La longueur augmentait dans les cultures. On ne peut guère nier, d'après ces caractères, que ces observateurs aient vu le véritable organisme pathogène. Cornevin (2) décrit dans le rouget des bâtonnets courts, qui ne sont autres peut-être que les formes en 8 de Pasteur et Thuillier. C'est Loeffler (3) qui a fixé d'une manière certaine les caractères

(1) Pasteur et Thuillier, Sur le rouget ou mal rouge du porc (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCV, 1883, et *Bull. de l'Acad. de méd.*, 1883, n° 48).

(2) Cornevin, Première étude sur le rouget du porc. Paris, 1885.

(3) Loeffler, Experimentelle Untersuchungen über Schweine-Rothlauf (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, p 46).

du *Bacille du rouget*, qu'il est parvenu à isoler et à cultiver sur milieux solides.

Morphologie. — Caractères microscopiques. — Ces Bactéries s'observent surtout dans le sang ; elles sont très abondantes dans les vaisseaux de la peau ; cependant on doit surtout les rechercher dans le suc de la rate, du foie ou de la moelle des os ; le sang n'en contient qu'un petit nombre. Ce sont de fins bâtonnets immobiles, mesurant 0,6 μ à 1,8 μ de long sur 0,3 μ environ de large (fig. 277), isolés ou réunis par deux ou en petits amas entre les globules du sang. Les globules blancs en renferment souvent un très grand nombre. La forme ressemble beaucoup à celle du *Bacillus muriseplicus* ; les dimensions sont identiques, sauf une largeur un peu plus grande. Les cultures ont aussi le même aspect que celles de cette dernière espèce qui paraît être bien voisine.

Il ne semble pas former de spores.



Fig. 278. — *Bacille du rouget*. Culture sur la gélatine en piqûre.

Kitt (1) dit avoir observé très nettement la production de filaments ramifiés, en tout semblables à ceux des *Streptothrix* ou *Cladothrix*, en cultivant le *Bacille du rouget* dans un mélange à parties égales de bouillon et de sérum liquide. Le microbe y fournit alors de petites masses sphériques, blanchâtres.

Coloration. — Ce Bacille se colore très bien aux couleurs d'aniline et *reste coloré* par la méthode de Gram ou les similaires.

Cultures. — Les cultures sont faciles à obtenir à l'air ou sans air. Cette Bactérie est un anaérobie facultatif. Elle pousse bien à la température ordinaire.

Cultures sur plaques de gélatine. — Le *Bacille du rouget* y donne, au bout de deux à trois jours, au-dessous de la surface, de petites colonies floconneuses, ressemblant à du fin duvet inclus dans la gelée. Ces colonies sont constituées par de minces filaments ramifiés et anastomosés entre eux. La gélatine *n'est pas liquéfiée.*

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* dans un tube de gélatine ordinaire, à 8 ou 10 p. 100 (fig. 278), la culture prend un aspect assez caractéristique, semblable à celui que donne dans les mêmes conditions le *Bacillus muriseplicus*. Du canal blanchâtre partent de nombreux filaments sinueux ramifiés, qui s'irradient dans la gélatine ambiante, en entourant le sillon central d'une masse nuageuse semi-transparente. On compare heureusement l'aspect à celui d'une brosse à bouteilles.

La partie centrale de la colonie, au bout d'un certain temps, s'enfonce dans la gelée qui se creuse ; mais il ne se produit jamais de liquéfaction vraie. A la surface de la gelée, il ne se forme rien ou presque rien.

(1) Kitt, Die Streptothrixform des Rothlaufbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897 p. 726).

D'après Schütz (1), dans les cultures très âgées on pourrait voir un commencement de liquéfaction.

Avec des gelées très consistantes, 12 à 20 p. 100, cet aspect filamenteux, duveté, est peu prononcé ou même manque complètement ; le long de la piqûre, il se forme de petites colonies rondes.

En *strie* sur gélatine, on peut obtenir de très minimes colonies superficielles qui donnent dans la profondeur de petits prolongements floconneux en forme de pinceau.

Cultures sur gélose et sur sérum. — Il se forme, le long de la strie d'inoculation, de petites colonies blanchâtres qui peuvent confluer en un mince revêtement ; mais le développement est toujours très minime.

Cultures sur bouillon. — Le bouillon, neutre ou alcalin, ensemencé avec du sang ou du produit de cultures pures, se trouble rapidement, puis laisse déposer un faible sédiment blanchâtre, très léger, mais ne montre jamais de voile.

Cultures sur pomme de terre. — A l'air, on n'observe aucun développement ; sans air, on obtient une minime culture.

D'après Schottelius (2), les Bactéries croissant dans le bouillon seraient légèrement mobiles; les cultures maintenues à 40° renfermeraient de petites spores rondes, brillantes, qui sont probablement des formes involutives.

Propriétés biologiques. — Les modifications produites dans les divers milieux paraissent peu profondes. Les cultures ne donnent jamais la réaction de l'indol.

La vitalité se perd vite au contact de l'air ; elle se conserve longtemps à l'abri de l'air.

Dans l'eau, le Bacille peut rester plus d'un mois vivant et virulent. Dans le sol humide, il peut vivre plus longtemps ; Lösener (3) l'a retrouvé vivant dans des cadavres de porcs enfouis, après deux cent trente-quatre jours ; dans la terre et le fumier, Gaertner (4) a obtenu des survies beaucoup moins longues.

La chaleur a une action destructive très marquée ; à 45°, le virus est rapidement atténué ; tout est détruit en quelques minutes à 55 degrés.

L'action des antiseptiques est très peu connue.

Inoculation expérimentale. — Les cultures conservent leur virulence même après une longue série de générations. Elles tuent rapidement les souris et les pigeons. Les lapins peuvent mourir en cinq ou six jours, ou ne présenter que des accidents locaux. Les cobayes et les poules sont réfractaires. L'inoculation a pu déterminer un rouget mortel chez des jeunes porcs, mais elle échoue souvent; les insuccès de Loeffler semblent dus à ce qu'il a expérimenté sur une race très rustique, plus résistante que les espèces élevées d'ordinaire pour la consommation. Les cultures faites à l'abri de l'oxygène restent plus longtemps virulentes.

(1) Schutz, Ueber den Rothlauf der Schweine und die Impfung desselben (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1886, p. 57).

(2) Schottelius, Der Rothlauf der Schweine. Wiesbaden, 1885.

(3) Losener, Ueber das Verhalten von pathogenen Bakterien in beerdigten Kadavern (*Arb. aus dem. kaiserl. Gesundheitsamte*, XII, 1895, p. 448).

(4) Gaertner, Ueber das Absterben von Krankheitserregern im Mist und Compost (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVIII, 1898, p. 1).

L'infection naturelle du porc semble devoir se faire par la voie intestinale, en absorbant des aliments souillés par les déjections, toujours virulentes, de porcs déjà malades.

L'infection expérimentale du porc, à l'aide de cultures virulentes, ne donne souvent pas de résultats, surtout lorsqu'on procède par inoculation sous-cutanée ; elle réussit mieux par voie digestive.

Le lapin, la souris, le pigeon sont très sensibles et succombent généralement dans un espace de temps de trois à six jours. La lésion la plus importante est le gonflement de la rate.

Le cobaye est tout à fait réfractaire.

Par inoculations en séries chez le lapin, la virulence augmente pour cet animal, mais s'affaiblit pour le porc. En passant par le pigeon, au contraire, la virulence augmente aussi pour le porc ; un virus de troisième ou quatrième passage chez les pigeons tue sûrement le porc.

Vaccination. — Pasteur et Thuillier sont parvenus à établir une méthode de vaccination contre le rouget en se basant sur certaines particularités du développement de la Bactérie dans l'organisme animal. Lorsqu'on fait passer du virus par l'organisme d'un pigeon, sa virulence augmente de telle sorte, qu'après deux ou trois passages, il présente une puissance d'infection notablement plus marquée que celle du virus naturel le plus fort, pris sur un porc qui vient de succomber à l'affection. En se servant du lapin comme organisme de transition pour inoculer ensuite le porc, c'est le contraire que l'on observe. La virulence diminue sensiblement, de telle sorte qu'après plusieurs passages, du sang pris sur le dernier lapin ne détermine chez le porc qu'une affection légère, qui guérit facilement et confère une immunité relative. Cette virulence ne diminue pas cependant vis-à-vis du lapin ; tout au contraire elle augmente, et les lapins inoculés en séries périssent de plus en plus vite.

En cultivant le sang du lapin, Pasteur prépare deux vaccins de force différente qui, inoculés successivement aux jeunes porcs, leur donnent une immunité durant un an, suffisante pour ce cas spécial, le temps accordé étant assez long pour l'engraissage.

Schütz (1) et Kitt (2) ont répété les expériences de Pasteur sur la vaccination et sont arrivés à des conclusions peu différentes.

Emmerich, Mastbaum et Tsuboï (3) ont préconisé comme vaccin le suc, filtré sur bougie Chamberland, retiré des organes, des muscles, du sang de lapins et de porcs tués par des cultures très virulentes.

Lorenz (4) a conseillé la vaccination à l'aide de cultures en bouillon stérilisées.

(1) Schutz, Ueber den Rothlauf der Schweine und die Impfung desselben (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, 1, p. 57).

(2) Kitt, Untersuchungen über den Stäbchenrothlauf der Schweine und dessen Schutzimpfung (*Centralbl. für Bakt.*, II, 1887, p. 693).

(3) Emmerich et Mastbaum, Die Ursache der Immunität, die Heilung von Infections-krankheiten, speciell des Rothlaufs der Schweine und ein neues Schutzimpfungs verfahren gegen diese Krankheit (*Arch. für Hygiene*, XII, 1890). — Emmerich et Tsuboï, Versuch der Immunisierung von Schweinen gegen Rothlauf (*Deutsche thierärztl. Wochenschr.*, 1893, n° 13).

(4) Lorenz, Ein Schutzimpfungsverfahren gegen Schweinrothlauf (*Centralbl. für Bakt.*, XIII, 1893, p. 357).

Enfin, on a préconisé en Allemagne, sous le nom de *Porcosan*, un produit qui paraît être un extrait glycériné de bouillon de culture, analogue à la tuberculine, qui ne paraît pas pouvoir donner les résultats qui sont commercialement annoncés (1).

Sérothérapie. — Lorenz (2) a montré que les porcs vaccinés à l'aide de virus atténués et ceux qui ont résisté à la maladie donnent un sérum immunisant pour les virus forts. Toutefois, ce sérum n'est pas curatif.

Leclainche (3) a obtenu avec le lapin un sérum fortement immunisant, préventif et curatif pour le lapin et la souris. Il reste à voir ses effets sur le porc.

Habitat et rôle étiologique. — Le porc semble être seul exposé à la contagion ; on a cependant observé la contamination de lapins et de pigeons en contact avec les porcs malades.

L'usage de la viande de porcs tués au début de l'affection ne semble guère pouvoir nuire, l'affection ne se communiquant pas à l'homme ; si l'on veut la consommer, il faut le faire avant qu'elle n'ait pris les caractères de viande fiévreuse. A se rappeler, cependant, que les viandes peuvent servir à la transmission de la maladie dans des endroits indemnes.

Recherche et diagnostic. — L'examen du sang et mieux de la pulpe de la rate, des ganglions lymphatiques, de la moelle des os, montre nettement, après coloration, les Bactéries spéciales.

L'inoculation expérimentale fournira d'excellents éléments de diagnostic. Le virus du rouget tue le pigeon en trois à cinq jours et est sans effet sur le cobaye.

Les cultures, surtout celles sur gélatine, pourront aussi renseigner.

BACILLUS MURISEPTICUS Koch.

(*Bacille de la septicémie de la souris.*)

Atlas de microbiologie, pl. xxiv.

Koch (4) a déterminé, chez les souris de maison, une septicémie particulière, en leur inoculant sous la peau des liquides de putréfaction. Il a pu produire la même affection en se servant d'eau de la Panke, rivière bourbeuse charriant toutes sortes de détritus. Gaffky (5) a repris depuis l'étude de cette maladie.

Les Bacilles, que l'on rencontre abondamment dans le sang, sont très délicats et mesurent de 0,8 μ à 1 μ de longueur, sur une largeur minime de 0,1 μ à 0,2 μ, semblables à ceux du *rouget du porc*. Ils sont immobiles et souvent unis par deux ; ceux des cultures atteignent 2 à 4 μ de long. Ils ressemblent, à s'y méprendre à première vue, dit

(1) Voges et Schutz, Ueber Impfungen zum Schutze gegen den Rothlauf der Schweine und zur Kenntniss des Rothlaufbacillus (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVIII, 1898, p. 38).

(2) Lorenz, Schutzimpfung gegen den Rothlauf der Schweine (*Deutsche thierärztl. Wochenschr.*, 1897, p. 91).

(3) Leclainche, Sur la sérothérapie du rouget du porc (*Soc. de Biol.*, 1er mai 1897).

(4) Koch, Ueber die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten, 1878.

(5) Gaffky, Experimentelle erzeugte Septicaemie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und accomodative Züchtung (*Milth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881, p. 80).

Koch, à de fines aiguilles cristallines, mais on les distingue facilement en les colorant. Ils *restent colorés* après traitement par la méthode de Gram.

En culture sur *plaques de gélatine*, ils forment, dans l'épaisseur de la gelée, de petites colonies floconneuses, blanchâtres, et rien à la surface. La gelée n'est pas liquéfiée.



Fig. 279. — *Bacille de la septicémie des souris*. Culture sur gélatine.

En *piqûre dans la gélatine*, on aperçoit, au bout de quelques jours, de nombreux filaments très déliés partir de la piqûre et s'irradier dans la masse environnante. La piqûre est entourée, lorsque le développement s'est fait assez longtemps, d'un nuage blanc, qui peut envahir la plus grande partie du tube (fig. 279). Cette culture ressemble beaucoup à celle du *Bacille du rouget du porc* (p. 822).

Sur *gélose*, il se développe, le long de la strie d'inoculation, des colonies rondes, isolées, d'une coloration blanc jaunâtre. On n'observe rien sur *sérum*.

Le *bouillon* ne se trouble que faiblement et se couvre d'un voile très fin.

Le *lait* n'est pas coagulé.

On n'observe pas la réaction de l'indol.

Le sang des souris mortes est d'une virulence extrême. La moindre portion inoculée à de nouveaux animaux les tue rapidement. Les cultures le sont moins ; il en faut une proportion plus forte pour déterminer les mêmes accidents. Les souris inoculées meurent de quarante à soixante heures. Elles présentent d'abord un grand abattement ; les paupières tombent, les yeux deviennent très larmoyants. Le poil se hérisse, le dos se courbe et l'animal meurt recroquevillé sur lui-même.

A l'autopsie, on trouve un léger œdème au point d'inoculation ; la rate est tuméfiée. Il existe de nombreux Bacilles dans la partie œdématiée, dans le sang de la circulation générale et dans celui des capillaires des organes. Koch en a signalé la présence fréquente dans les globules blancs ; ils semblent s'y multiplier, envahir complètement la cellule et la faire disparaître ; on peut retrouver toute la série des différents stades de ce processus.

Les souris de champ sont complètement réfractaires aux inoculations les plus virulentes. Les pigeons et les moineaux contractent l'affection et en meurent vite. Les lapins peuvent succomber à des doses fortes, mais souvent ils résistent et ne présentent que des phénomènes locaux, de simples rougeurs érysipélateuses au point d'inoculation. D'après Loeffler, ces lapins seraient devenus réfractaires à des inoculations des plus virulentes.

Karlinski (1) a donné le nom de *Bacillus murisepticus pleomorphus* à une Bactérie qu'il a rencontrée dans le pus d'un phlegmon de la cuisse et dans celui de collections purulentes de l'utérus chez une accouchée morte de septicémie puerpérale. Ce sont de courts bâtonnets à extrémités arrondies se colorant facilement, mais perdant très

(1) Karlinski, Ein neuer pathogener Spaltpilz (*Centralbl. für Bakt.*, V, 1889, p. 193)

vite leur couleur par lavage à l'alcool ou par traitement par la méthode de Gram. Dans certaines conditions, on observe de très longs bâtonnets et même des formes spirillaires. Toutes ces formes sont très mobiles.

En cultures sur plaques de gélatine, les colonies sont déjà visibles en dix heures comme de petites masses ovales ou allongées, blanches ou jaunâtres. Dix heures plus tard, la colonie s'est entourée d'une série d'anneaux concentriques, fins et réguliers. Puis, des bords ondulés partent des expansions sinueuses légèrement jaunâtres, qui rayonnent dans la gélatine ambiante. La gélatine se liquéfie alors et dégage une odeur butyrique.

En piqûre dans la gélatine, il se forme très rapidement un entonnoir de liquéfaction.

Sur gélose à 35°, la culture est très abondante et blanche.

Sur pomme de terre, on obtient une couche homogène, muqueuse, d'un blanc grisâtre, qui recouvre vite toute la surface.

Dans le bouillon, il se forme en quelques jours un dépôt blanc épais; le liquide prend une réaction fortement alcaline et développe une forte odeur. C'est surtout dans le dépôt des vieilles cultures dans le bouillon qu'on trouve de longues formes spirillaires.

En inoculant à des souris blanches une faible quantité de produit de culture, on les tue en vingt-deux à vingt-quatre heures avec les symptômes ordinaires des affections septicémiques. Les souris grises sont résistantes et ne périssent pas d'une façon constante. Les rats blancs sont tout à fait réfractaires ou ne présentent qu'un peu de suppuration. Les cobayes ne montrent rien en inoculation sous-cutanée ; l'injection intraveineuse les tue en quelques jours. Les lapins réagissent beaucoup plus; l'infection peut rester localisée ou se généraliser.

BACILLUS TYPHI MURIUM Loeffler.

Loeffler (1) le donne comme l'agent d'une affection septicémique qui sévit sur bien des rongeurs (*Mausetyphus*) ; il l'a rencontré dans une épizootie qui a fait périr rapidement, en 1889, toutes les souris conservées dans son laboratoire pour les expériences. C'est le même microbe que Danysz (2) a vu déterminer, à Charny, en Seine-et-Marne, une épizootie sur les souris de champ (*Arvicola arvalis*) et les souris des bois (*Mus sylvaticus*), et que Mereschkowsky (3) a rencontré, dans les mêmes conditions, chez des spermophiles (*Spermophilus musicus*).

Ce sont des Bacilles très mobiles, qui ressemblent par leurs caractères microscopiques au *Bacille typhique*. Ils se colorent assez bien aux couleurs d'aniline et se *décolorent* par la méthode de Gram. Le microbe isolé par Danysz, toutefois, *reste coloré* par le Gram.

Les cultures s'obtiennent facilement sur les milieux habituels.

(1) Loeffler, Ueber Epidemien unter den im hygienischen Institute zu Greifswald gehaltenen Maüsen und über die Bekampfung der Feldmausplage (*Centralbl. für Bakt.*, XI, 1892, p. 129).

(2) Danysz, Emploi des cultures artificielles de microbes pathogènes à la destruction des rongeurs (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CXVII, 1893, p. 869).

(3) Mereschkowsky, Zur Frage über die Virulenz des Löfflerschen Maüstyphus bacillus (*Centralbl. für Bakt.*, VI, 1894, p. 612, et XVII, 1895, p. 742).

Sur *plaques de gélatine*, les colonies incluses dans la gelée sont rondes, d'abord grisâtres, transparentes, faiblement granuleuses, puis brun jaunâtre, très granuleuses ; celles de la surface sont très granuleuses et présentent des vallonnements un peu semblables à ceux que présentent les colonies du *Bacille typhique*. La gélatine n'est *pas liquéfiée*.

Sur *gélatine* en *piqûre*, on obtient une culture qui ressemble à celle du *Bacille typhique* ou du *Bacille du choléra des poules*.

Sur *gélose*, la culture est blanc grisâtre, muqueuse ; de même sur *sérum coagulé*.

Sur *pomme de terre*, il se forme une culture grisâtre, pas très abondante, autour de laquelle le milieu prend une teinte gris bleuâtre.

Dans le *bouillon*, on obtient un trouble rapide. Le développement est plus abondant dans le *bouillon glucosé* ; des gaz se dégagent et il se forme à la surface une couche blanche floconneuse ; la réaction de l'iodoforme permet de constater la formation d'alcool.

Le *lait* ensemencé ne change pas d'aspect, mais prend une réaction fortement acide.

Les cultures sont virulentes pour un certain nombre d'animaux. Les souris de champ et de maison sont particulièrement sensibles. Par inoculation sous-cutanée, elles succombent en quelques jours ; on leur trouve un peu d'œdème au point d'inoculation et une rate tuméfiée ; les organes, surtout le foie, renferment de très nombreux Bacilles, formant souvent des amas, comme le *Bacille typhique*.

Par ingestion de cultures mélangées aux aliments, la mort survient en dix à quatorze jours ; les lésions sont semblables aux précédentes ; en outre, l'intestin est congestionné.

L'ingestion de produits virulents, très active chez toutes les souris, ne détermine aucun effet chez le lapin, le cobaye, les canards, les poules, les pigeons, les chats, les chiens, tous les bestiaux et même l'homme, d'après Danysz.

L'inoculation sous-cutanée produit une petite inflammation locale qui s'ulcère et guérit, chez le cobaye, les rats, les pigeons, et un petit abcès chez le lapin.

L'emploi de cultures mélangées à des aliments, pain, blé cuit, etc., paraît donner de très bons résultats pour la destruction des souris, dans les champs, magasins ou habitations.

Le bacille isolé par Issatschenko (1) paraît bien voisin.

BACILLE DE LA PESTE BUBONIQUE Yersin (2).

Atlas de microbiologie, pl. xxv.

La peste bubonique qui a, à diverses reprises, ravagé l'Europe, semble, depuis un siècle, s'être à peu près cantonnée dans certaines régions d'Asie (3) ; en Afrique, Koch a signalé un foyer d'endémie dans

(1) Issatschenko, Ueber einen neuen für Ratten pathogenen Bacillus (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 873).

(2) Yersin, La peste bubonique à Hong-Kong (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 662). — *Id.*, La peste bubonique ; sérothérapie (*Ibid.*, XI, 1897, p. 81).

(3) Netter, La peste et son microbe (*Sem. méd.*, 1895, p. 69).

l'Ouganda. La dernière épidémie dont la France ait eu à souffrir est la célèbre épidémie de Marseille, en 1720; toutefois, l'épidémie d'Oporto (1), en 1898, montre bien que l'Europe est toujours exposée au fléau. Chaque année, de mars à juillet, elle se réveille dans ses foyers privilégiés, la province chinoise du Yunnam, quelques localités de la Perse, et fait de nombreuses victimes. L'extension à l'Inde, qui s'observe actuellement, montre qu'elle peut encore s'étendre et menacer nos pays d'une pandémie semblable à celles que l'on observait autrefois. La maladie est éminemment contagieuse. La malpropreté, l'insalubrité sont des causes adjuvantes d'une haute puissance; aussi, tous reconnaissent la prédilection du fléau pour la population misérable.

L'incubation paraît être de quatre jours et demi à six jours. Le début est brusque; l'individu atteint est accablé, prostré, pris d'une forte fièvre. Dès le premier jour, apparaît la lésion caractéristique, le bubon; généralement unique, il siège 75 fois sur 100 à l'aine, 10 fois sur 100 à l'aisselle, rarement à la nuque ou ailleurs. Ce bubon atteint vite la grosseur d'un œuf de poule. La mort arrive en quarante-huit heures, fréquemment même plus tôt. D'autres fois, la vie se prolonge cinq à six jours, le bubon se ramollit, donne issue au pus; le pronostic est plus favorable. Parfois, le bubon n'a pas le temps de se former; on n'observe que des hémorragies des muqueuses ou des taches pétéchiales sur la peau. La mortalité est très forte, 95 p. 100 dans les hôpitaux (Yersin).

Yersin est parvenu à isoler et à étudier le microbe qui cause cette affection; Kitasato (2) y est arrivé en même temps et d'une façon tout à fait indépendante. De nombreux travaux sont venus confirmer ces données premières; il faut citer en première ligne ceux de la Commission allemande envoyée aux Indes, sous la direction de R. Koch; le rapport qu'elle a fait contient l'histoire complète de la question (3).

On le rencontre toujours en quantités considérables dans la pulpe des bubons pesteux, plus rarement dans le sang, dans les cas très graves.

Il a été signalé dans les crachats et dans les selles.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les éléments, tels qu'on les trouve dans le pus des bubons ou le sang des animaux atteints de peste, sont de courts bâtonnets, à extrémités arrondies, mesurant environ 1 μ de large, et dont la longueur est un peu variable (fig. 280 et 281). Ils peuvent être à peine plus longs que larges, ce qui fait qu'on les désigne souvent sous le nom de *cocco-bacilles*; ou avoir une longueur égale à deux fois, rarement trois fois la largeur. D'ordinaire, la longueur ne dépasse guère 2 μ.

Ils sont immobiles, bien que Kitasato les donne comme mobiles et

(1) Calmette et Salimbeni, La peste bubonique. Étude de l'épidémie d'Oporto en 1898. Sérothérapie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 865).

(2) Kitasato, The Bacillus of the bubonic plague (*The Lancet*, II, 1894, p. 428).

(3) Gaffky, Pfeiffer, Sticker et Dieudonné, Bericht über die Thätigkeit der zur Erforschung der Pest im Iahre 1897 nach Indien entstanden Kommission (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, XVI, 1899).

qu'on leur ait décrit des cils (1), qui paraissent n'être que des accidents de préparation.



Fig. 280. — Bacille de la peste. Pus de bubon inguinal (d'après Yersin).

Ils montrent parfois, surtout dans les liquides organiques visqueux, une petite auréole transparente, sorte de capsule.

Ils ne donnent jamais de spores.



Fig. 281. — Bacille de la peste. Sang de rat inoculé.

Dans les cultures, les bâtonnets sont le plus souvent courts, associés en chaînettes assez longues (fig. 282). On observe souvent des formes

(1) Gordon, Note on flagella of Micrococcus melitensis and Bacillus pestis (*The Lancet*, 1898, n° 10, p. 688).

d'involution, des éléments renflés irrégulièrement rappelant parfois des formes de Levures, ou des éléments très grêles ; ces formes se colorent bien ou prennent très peu la couleur. On en rencontre facilement sur la gélose salée à 3 p. 100 (Hankin).

Coloration. — Ils se colorent bien en général aux méthodes ordinaires et se *décolorent* par la méthode de Gram. D'après Kitasato, les bâtonnets qui se trouvent dans le sang resteraient souvent colorés par cette dernière méthode.

Souvent, la coloration des bâtonnets est plus intense aux deux pôles, laissant un espace central clair, comme avec le *Bacille du choléra des poules*.

Cultures. — Ce microbe se cultive bien sur les milieux habituels. Il faut que la réaction soit légèrement alcaline ; une réaction acide ou beaucoup d'alcali sont nuisibles. C'est un aérobie exclusif. La végétation se fait à basse température, vers 4° à 5°, mais très lentement, et déjà bien vers 20°-22° ; l'optimum est vers 37 degrés.



Fig. 282. — Bacille de la peste. Culture de bouillon (d'après Yersin).

Cultures sur plaques de gélatine. — A 22°, le développement est bien visible en deux ou trois jours. Dans la gelée, on voit de petites colonies rondes, granuleuses, jaunâtres, réfringentes, à demi transparentes. Celles de la surface ont le même aspect, mais s'accroissent plus vite. Elles deviennent plus bombées, plus sombres et s'entourent souvent d'une zone transparente, à bords déchiquetés, sorte de collerette à bords irrégulièrement sinués (fig. 283). Il ne se produit jamais de liquéfaction. Les colonies profondes ne prennent pas cette collerette et gardent, en grandissant peu, leur aspect primitif.

Cultures sur gélatine. — Sur gélatine; en *piqûre*, il se forme à la

surface une petite culture jaunâtre, transparente, et dans le canal une traînée blanchâtre, filamenteuse.



Fig. 283. — Peste. Cultures sur plaques (d'après le rapport de la Commission allemande

CULTURES SUR GÉLOSE. — Il se forme en deux jours une colonie blanchâtre, un peu transparente, à bords irisés. La gélose glycérinée convient mieux.

CULTURES SUR SÉRUM. — Mêmes caractères que sur gélose.

CULTURES DANS LE BOUILLON. — D'après Yersin, le développement ressemblerait à celui du *Streptocoque* ; il se formerait des grumeaux le long des parois et au fond du tube, le liquide resterait clair. D'après la Commission allemande, le bouillon se troublerait lentement et montrerait après quelques jours un petit dépôt blanchâtre, floconneux ; peu à peu il se forme à la surface un anneau blanchâtre, adhérent au verre, puis un léger voile ; le liquide ne s'éclaircit qu'après longtemps.

Avec les sucres, surtout glucose et lévulose, le développement est plus abondant. Il ne se forme jamais de gaz, ni dans le bouillon simple, ni dans les bouillons sucrés.

CULTURES DANS LE LAIT. — Le développement est peu abondant ; il ne se fait pas de coagulation.

CULTURES SUR POMME DE TERRE. — Le développement est très lent ; il se forme sur la strie d'inoculation une bande blanchâtre ou un peu jaunâtre.

CULTURES SUR RIZ CUIT. — Le développement est modéré et se fait sous forme de taches grisâtres.

CULTURES SUR MILIEUX AU TOURNESOL. — La couleur bleue vire au rouge, par production d'un peu d'acide.

Propriétés biologiques.

Vitalité. — La vitalité du microbe paraît être assez marquée. Elle peut se manifester longtemps dans les produits pathologiques, dans les

cultures et même dans le milieu extérieur, si toutefois le microbe est soustrait aux causes de destruction. Parmi celles-ci, la concurrence des saprophytes paraît largement intervenir. D'après Yokoté (1), dans les cadavres d'animaux morts de la peste et enterrés, la durée de la persistance de la vie du *Bacille pesteux* est assez courte. Il disparaît au plus tard après vingt à trente jours et souvent beaucoup plus tôt. Une température chaude et le degré de putréfaction du cadavre sont les conditions qui sont les plus actives. Dans la terre et dans l'eau, le microbe peut disparaître vite, ou se retrouver vivant après deux et trois mois.

Virulence. — Les produits pathologiques frais qui renferment le microbe sont très virulents et gardent longtemps leur activité, si on les maintient dans de bonnes conditions, à l'abri de l'air et au froid par exemple. Les premières cultures peuvent être aussi virulentes que la pulpe fraîche du bubon. Mais dans les diverses colonies obtenues, il y en a qui sont très virulentes: ce sont souvent les plus vigoureuses; d'autres qui le sont peu. Dans les cultures successives, la virulence s'atténue souvent et peut même disparaître. Il est possible, par certains procédés d'inoculation, de faire revenir cette virulence à son degré primitif; ce qui prouve le danger de la présence, dans le milieu extérieur, du microbe, même à l'état de saprophyte, se montrant dépourvu de virulence.

Produits formés dans les cultures.

Le microbe produit un peu d'acide dans les milieux, probablement aux dépens des hydrocarbonés.

Il forme de l'indol aux dépens des albuminoïdes, surtout des peptones. La coloration est très forte, après addition d'une petite quantité de nitrite de potassium, avec l'acide sulfurique ou chlorhydrique. Elle est notable, quoique lente à se produire, avec l'acide seul, comme pour la réaction du rouge de choléra; ce qui indique la présence d'un peu de nitrite alcalin formé par le microbe par suite de la réduction des traces de nitrates présentes dans le milieu.

Les cultures n'ont aucune odeur; elles ne donnent jamais la réaction de l'hydrogène sulfuré.

Les produits les plus intéressants des cultures sont certainement les produits toxiques constituant par leur réunion la *toxine pesteuse*. C'est à la diffusion de ces produits dans les organismes infectés que sont dus bon nombre des symptômes observés, entre autres la grande prostration, les suffusions sanguines dans les organes.

Les substances toxiques diffusent peu dans le milieu de culture; Yersin, Calmette et Borrel (2) ont reconnu il y a longtemps le peu d'activité des bouillons de cultures filtrés. D'après Markl (3), elles seraient surtout contenues dans les corps bacillaires. Pour obtenir une toxine active pour les petits animaux, il faut user de bouillons de cultures âgés

(1) Yokoté, Ueber die Lebensdauer der Pestbacillen in der beerdigten Thierleiche (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 1030).

(2) Yersin, Calmette et Borrel, La peste bubonique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 589).

(3) Markl, Beitrag zur Kenntniss der Pesttoxine (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, p. 641 et 728).

de plusieurs semaines, où la quantité de principe toxique soluble a pu augmenter par contact ; de telles toxines n'ont encore que peu d'effets sur les animaux de plus grande taille que la souris. Cette toxine ne se formerait qu'à basse température, au-dessous de 25°; elle se détruit rapidement sous l'influence de la chaleur, de l'oxygène et de la lumière. Lustig et Galeotti (1) obtiendraient un liquide plus actif en traitant les cultures sur gélose par une lessive de potasse à 1 p. 100 et filtrant sur bougie.

Résistance aux conditions de milieu. — Les particularités de résistance du *Bacille de la peste* à l'égard des agents extérieurs ont une grande importance pour établir la prophylaxie de l'affection (2).

La dessiccation n'agit que faiblement et lentement. Toutefois, les expériences donnent des résultats contradictoires ; dans certaines d'entre elles, les microbes étaient morts après dix à quinze jours, tandis que dans d'autres on en retrouvait de vivants encore après deux mois. L'effet nocif de la dessiccation se remarque d'autant plus que la température est plus haute ; il est assez rapide lorsque la température atteint 30 à 35 degrés.

La lumière solaire, vers 22°, détruit toute vitalité en trois heures à trois heures et demie ; toutefois, cette action rapide est toute superficielle ; en épaisseur, l'effet est très lent à se manifester.

Le *Bacille pesteux* est assez peu résistant à la chaleur. D'après Wilm (3), une température de 58° le tue après une heure, 80° en vingt minutes, 100° en dix minutes. D'après Abel (4), dans la vapeur d'eau la mort des cultures se constaterait à 100° après une minute, à 90° après cinq minutes, à 70° après dix minutes, à 60° après plus de dix minutes, à 50° après plus de soixante minutes. Les cultures de faible volume sont constamment stérilisées lorsqu'elles ont été exposées dans la vapeur à 100° pendant cinq minutes. Les froids de l'hiver sont sans effet (5).

Résistance aux antiseptiques. — Le microbe paraît très sensible à la plupart des antiseptiques couramment employés (6). Voici les résultats qui semblent les mieux établis.

L'acide phénique à 1 p. 100 a une action très lente ; après six heures de contact les microbes sont encore vivants, pas toujours complètement tués après vingt-quatre heures, toujours après deux jours. Le mélange à parties égales d'acide phénique et d'acide sulfurique est plus actif ; à 1 p. 100, il stérilise les cultures en dix minutes, à 0,2 p. 100 en trente minutes.

Le lysol à 1 p. 100 stérilise en dix minutes.

Avec le sublimé à 1 p. 1000, le pus bubonique étendu en couche mince

(1) Lustig et Galeotti, Versuche mit Pestschutzimpfungen bei Thieren. Schutzimpfungen gegen Benlenpest (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1897, n°s 15 et 19).

(2) Giaxa et Gosio, Ricerche sul bacillo della peste bubonica in rapporto alla profilassi (*Ann. d'Igiene sper.*, VII, 1896, p. 261).

(3) Wilm, Ueber die Pestepidemie in Hong-Kong im Jahre 1896 (*Hygienische Rundschau*, 1897, n°s 5 et 6).

(4) Abel, Zur Kenntniss des Pestbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 497).

(5) Kasansky, Die Einwirkung der Winterkälte auf die Pest-und Diphteriebacillen (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 122).

(6) Schultz, Ueber die Einwirkung der Antiseptica auf den Bac. pestis hominis und die Desinfektion von Gegenständen und geschlossenen Raümen bei Bubonenpest (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 594).

sur une lamelle de verre est stérilisé en deux minutes, des cultures sur gélose en dix minutes. A 1 p. 5 000, les cultures sur gélose sont tuées en une heure. Dans le bouillon, le Bacille ne présente aucun développement avec 1 p. 50 000 de sublimé, mais végète avec 1 p. 100 000.

Le chlorure de chaux à 1 p. 100 stérilise en cinq minutes du pus étalé en couche mince, et en trente minutes une culture sur gélose.

Le lait de chaux au cinquième (chaux vive 1, eau 4) stérilise en dix minutes le pus virulent.

L'acide chlorhydrique à 1 p. 100 stérilise les cultures après trois heures de contact.

L'aldéhyde formique a une action lente et superficielle. Dans les parties superficielles, les Bacilles ne sont morts qu'après cinq heures de contact; plus profondément seulement après vingt-quatre heures.

Tout ceci démontre que les procédés habituels de désinfection ont des effets certains sur le microbe.

Inoculation expérimentale.

La plupart des animaux d'expérience se montrent réceptifs à l'égard du virus pesteux. Au premier rang se trouve le rat qui est extrêmement sensible. Le singe est presque aussi sensible, surtout le singe gris commun. La souris et le cobaye sont également très réceptifs, le lapin un peu moins que ces derniers. Le chien et le chat sont assez peu sensibles. Le cheval, le bœuf, le mouton, la chèvre sont assez résistants et supportent, avec plus ou moins de peine cependant, les inoculations virulentes. Certaines races de porcs résistent au virus, d'autres sont assez sensibles ; le porc pourrait, probablement, présenter la peste spontanée et servir à sa propagation.

Les poules, les pigeons, les oies paraissent tout à fait réfractaires; on a bien signalé, pendant des épidémies de peste, des cas de grande mortalité sur les volailles, mais ils paraissent être dus à autre chose, surtout le choléra des poules.

L'inoculation peut réussir de différentes manières. Avec les animaux très réceptifs, le rat et le singe surtout, il peut suffire de mettre un peu de virus pesteux au contact d'une petite excoriation cutanée minime.

Chez les souris, les rats, les cobayes, les lapins, les singes, il suffit de déposer sur la muqueuse nasale, sans l'excorier, un peu de virus pesteux, pour leur communiquer à coup sûr la maladie sous sa forme pneumonique (1). Les cultures très atténuées se montrant même dépourvues de virulence en inoculation sous-cutanée, réussissent même à faire périr la souris et le cobaye avec ce mode d'inoculation, surtout si l'on fait intervenir une association favorisante comme celle du Streptocoque et, fait important, regagnent de la virulence, pouvant, après plusieurs passages, récupérer la virulence primitive. Toutes les muqueuses accessibles se prêtent bien à la pénétration du virus pesteux, mais à un degré moindre que la muqueuse nasale.

Les rats, les cobayes, les souris, prennent facilement la peste par le

(1) Batzaroff, La pneumonie pesteuse expérimentale (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 385).

tube digestif, en se nourrissant d'aliments chargés de produits virulents.

L'injection intraveineuse tue le cobaye en trois à cinq jours; l'injection intrapéritonéale souvent en deux jours.

En inoculation sous-cutanée, avec un produit très virulent, chez le cobaye, on perçoit de l'œdème quelques heures après l'inoculation ; les ganglions voisins se gonflent et se sentent au toucher. Au bout de vingt-quatre heures, le poil se hérisse, l'animal tombe sur le côté et est pris de crises convulsives de plus en plus rapprochées jusqu'à la mort qui survient plus ou moins tôt suivant l'activité du virus.

A l'autopsie, on trouve un œdème rosé au point d'inoculation; le ganglion voisin est volumineux; tous les organes sont congestionnés ; on trouve des hémorragies de la paroi abdominale, l'intestin souvent hypérémié, les capsules surrénales et les reins congestionnés, le foie gros, la rate très tuméfiée, présentant fréquemment une sorte d'éruption de petits tubercules miliaires, un peu de sérosité dans la plèvre et le péritoine.

Le foie, la rate, les ganglions lymphatiques, gonflés, sont très riches en microbes; le sang, les sérosités pleurale et péritonéale en contiennent moins.

Immunité. — Sérothérapie. — Vaccination.

On peut arriver à immuniser le lapin en se servant de toxines, mais précisément à cause du peu d'activité de ces toxines, il n'est guère possible d'arriver à obtenir une immunité bien établie et surtout durable à l'égard de virus très actif.

Yersin, Calmette et Borrel, puis Markl, ont employé, seules ou combinées avec l'usage de toxine, les injections sous-cutanées, intra-péritonéales ou intraveineuses de corps bacillaires tués par la chaleur, un chauffage d'une heure à 58°. Trois ou quatre injections sous-cutanées, faites de quinze jours en quinze jours, vaccinent le lapin contre une inoculation sous-cutanée du Bacille virulent. Le sérum des lapins vaccinés a une action préventive et curative certaine.

Le cobaye est difficile à immuniser. Batzaroff y est parvenu en usant de mélange de sérum antipesteux d'autres animaux et de cultures virulentes vivantes.

L'immunisation du cheval est aussi une opération délicate, qu'il faut conduire avec prudence à cause de la grande sensibilité de l'animal à l'égard du virus pesteux. Les toxines obtenues n'ayant pas d'action marquée sur lui, il est nécessaire de recourir aux cultures vivantes. L'inoculation sous-cutanée donne des tuméfactions qui durent longtemps et suppurent souvent. Il est préférable de recourir aux inoculations intraveineuses. En injectant à peu près la valeur d'une culture sur gélose, il se produit rapidement une réaction fébrile intense; une seconde injection, faite vingt jours après la première, donne encore une forte réaction, mais l'animal se remet bien plus vite. On peut alors répéter les injections à doses plus fortes et à intervalles plus rapprochés. L'animal peut maigrir beaucoup pendant l'expérience.

A cause du danger de la manipulation du virus pesteux vivant, il est préférable de recourir à l'emploi de cultures tuées par la chaleur, qui sont toutefois beaucoup moins actives.

Le sérum d'un tel animal est à la fois anti-infectieux et antitoxique. L'emploi qui en a été fait dans bien des cas, en particulier par Yersin en Chine, par Calmette et Salimbeni à Oporto (1), démontre d'une façon évidente son action curative et préventive pour l'homme. Comme moyen thérapeutique, il est nécessaire d'en injecter des doses notables, de 40 à 300 centimètres cubes, en injection sous-cutanée ou, mieux, en injection intraveineuse faite à plusieurs reprises dans une veine superficielle, de la face dorsale de la main ou du poignet, par exemple. Denys (2) donne comme bonne méthode d'injecter de petites quantités de sérum à plusieurs endroits voisins de la lésion apparente, point d'inoculation ou ganglion tuméfié, de façon à la circonscrire avec des piqûres.

L'action préventive dure peu de temps; avec 5 centimètres cubes, pour l'homme, l'immunité est presque immédiatement acquise, mais ne dure guère plus de quinze jours; il faut la renouveler chaque deux semaines.

Haffkine (3) préconise la vaccination au moyen de cultures virulentes tuées par un chauffage d'une heure à 70°. Les produits actifs sont à la fois ceux du liquide et ceux des corps bacillaires. La dose pour l'homme est de 2 à 3 centimètres cubes de bouillon de culture chauffé et bien émulsionné, en inoculation sous-cutanée. Les résultats obtenus par Haffkine dans l'Inde, où il a appliqué sa méthode sur une grande échelle, semblent être tout à fait à considérer et bien établis.

Il y a toutefois à observer que l'immunité demande huit ou dix jours pour s'établir et ne dure guère que deux semaines. Les inoculations provoquent de la fièvre pendant un à deux jours et un peu de lymphangite autour du point d'inoculation; le mélange d'une petite quantité de sérum antipesteux paraît diminuer la réaction et confère de suite une immunité peut-être suffisante pour attendre l'effet du vaccin.

Terni et Bandi (4) recommandent un vaccin obtenu en chauffant pendant deux jours à 50-52° le liquide séro-purulent que l'on recueille dans le péritoine des cobayes tués par l'injection intrapéritonéale de culture virulente, délayé dans un peu de solution physiologique s'il est trop épais. Un tel vaccin conférerait l'immunité en quatre ou cinq jours et donnerait une immunité beaucoup plus longue, de plus de deux mois.

Habitat et rôle étiologique.

Chez l'homme, la peste évolue presque toujours d'après le type classique, avec un ou plusieurs bubons accompagnés ou non d'engorgements ganglionnaires multiples. La forme pulmonaire (*pneumonie pesteuse*) est plus rare ; elle peut être due uniquement à une infection

(1) Calmette et Salimbeni, La peste bubonique. Étude de l'épidémie d'Oporto en 1898. Sérothérapie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 865).

(2) Denys, Procédé pour augmenter dans une forte proportion l'efficacité du sérum antipesteux (*Acad. de méd. de Belgique*, 27 janvier 1900).

(3) Haffkine, Rapports officiels de la Commission de la peste aux Indes sur les inoculations antipesteuses de Haffkine, 1899-1900.

(4) Terni et Bandi, Nouvelle méthode de préparation du vaccin antipesteux (*Revue d'hygiène*, 1900, n° 1, p. 62).

directe par inhalation ; ou bien, elle est secondaire, la pneumonie survenant comme complication de la peste à bubons. On décrit aussi une forme septicémique (*pesticémie*), caractérisée par de très nombreux microbes dans le sang ; enfin une forme lente, cachectique.

Chez les individus atteints de peste, on trouve le Bacille dans toutes les lésions. Les microbes abondent surtout dans les bubons et dans la rate. Dans les bubons en pleine suppuration, on rencontre en même temps des microbes pyogènes ordinaires, surtout le *Staphylocoque* et le *Colibacille*, qui peuvent rapidement prendre le dessus et cacher ou faire disparaître le Bacille spécifique. On le trouve également dans tous les ganglions tuméfiés. Le sang en renferme fréquemment, surtout dans les cas graves à forme septicémique ; il peut toutefois ne pas s'y rencontrer et en disparaît assez vite, comme si sa présence dans le sang n'était qu'un phénomène secondaire. On le trouve dans beaucoup d'organes, poumons, cœur, foie, reins, parois de l'estomac et de l'intestin, contenu probablement dans les voies lymphatiques. Il est fréquent dans les crachats, surtout dans la forme pneumonique, dans l'urine, dans les matières fécales. Il ne semble pas se rencontrer dans la salive, dans la sueur, ni dans le lait. Il existe dans beaucoup d'exsudats pathologiques, des méninges, de la plèvre, du péritoine, lorsqu'il se produit des manifestations qui intéressent ces appareils.

Les malades et les morts disséminent largement le microbe dans le milieu extérieur, dans l'eau et le sol surtout. Yersin a rencontré dans le sol d'une localité infectée un Bacille identique à celui de la peste, mais moins virulent que celui retiré des bubons. Le virus paraît pouvoir rester atténué dans le sol, jusqu'à ce que se présentent des conditions favorables à l'infection.

Les individus guéris peuvent propager le contage ; Gotschlich (1), dans des formes pneumoniques, a pu constater la présence dans les crachats de Bacilles virulents jusque quarante-huit jours après la défervescence complète, après disparition de tout symptôme morbide.

Certains animaux peuvent prendre la peste spontanément. En première ligne se trouvent les rats, sur lesquels la peste peut sévir d'une façon très meurtrière. On fait même jouer aujourd'hui à cette peste des rats un rôle considérable dans la transmission de la peste à l'homme et dans l'extension des épidémies. C'est du reste là une croyance populaire très ancienne et très profondément établie dans les régions où la peste est fréquente. En Chine, l'épidémie serait même annoncée par une maladie des rats qui sortent par bandes, courent affolés dans les maisons et meurent en grand nombre. Le rat s'infecte probablement par l'alimentation, en mangeant des détritus chargés de matière virulente ou les cadavres de ses semblables morts de peste, ou par transport du virus par des animaux parasites piquants, les puces principalement.

D'autres animaux paraissent aussi pouvoir prendre la peste spontanée, mais moins communément que le rat, la souris et le porc particulièrement.

Dans la transmission du rat à l'homme, il semble que l'on doive surtout incriminer la puce du rat, comme le démontrent les recherches de

(1) Gotschlich, Ueber wochenlange Fortexistence lebender virulenter Pestbacillen im Sputum geheilter Fälle von Pestpneumonie (*Zeitschr. für Hygiene*, XXXIII, 1899, p. 402).

Simond (1) : les piqûres de ces puces seraient la voie d'introduction du virus. D'autres insectes piqueurs, les punaises particulièrement, transmettraient facilement l'infection d'homme à homme ; les mouches ordinaires peuvent aussi transporter le virus. Yersin a trouvé le Bacille virulent dans des cadavres de mouches, pendant l'épidémie.

La contagion à l'homme se fait du reste très facilement, non seulement avec les produits pathologiques, mais avec les cultures virulentes, comme le prouve trop bien l'épidémie du laboratoire de Vienne, qui a coûté la vie au professeur Müller en 1898. C'est l'infection par la peau qui paraît dominer : toutefois, les expériences de Bandi et Balistreri (2) démontrent bien que, chez le cobaye, le Bacille de la peste est très infectieux par la voie digestive, et qu'on peut obtenir de cette façon les différents types cliniques observés chez l'homme ; il y aurait donc lieu de tenir grand compte du rôle de l'eau et des aliments contaminés.

De telles données sont précieuses pour établir la prophylaxie de la peste. Les mesures à prendre ne doivent pas seulement viser les individus provenant de milieux infectés, mais aussi, et particulièrement, les rats, et leurs parasites qui paraissent jouer un si grand rôle. Le peu de résistance du virus aux agents désinfectants fait que les procédés de désinfection, convenablement appliqués, détruisent aisément toute son activité.

Recherche et diagnostic.

Le diagnostic précoce est une excellente condition pour pouvoir arrêter tôt une épidémie. Sur le cadavre, ce diagnostic se fait facilement par la recherche du Bacille dans ses endroits de prédilection, les bubons, les ganglions tuméfiés, la rate. Sur le vivant, on peut le rechercher dans le pus des bubons ouverts, dans le suc des bubons fermés que l'on prélève par ponction capillaire aseptique, dans le sang par une prise faite au doigt ou au lobule de l'oreille, avec les précautions aseptiques nécessaires, dans les crachats, dans l'urine même qui renferme souvent des Bacilles. On fera des préparations colorées et des cultures qui permettront de reconnaître les caractères et la virulence du microbe.

Le sérum antipesteux a une action agglutinante manifeste sur les Bacilles des cultures. C'est le moyen d'établir aisément un diagnostic différentiel avec d'autres espèces bactériennes qui ne sont pas influencées dans ces conditions.

BACILLE DE L'INFLUENZA.

Atlas de microbiologie, pl. XXV.

On est généralement d'accord aujourd'hui pour considérer comme l'agent pathogène de l'*influenza*, ou *grippe épidémique*, le Bacille découvert par R. Pfeiffer (3) dès 1890 et bien décrit par lui peu après dans plusieurs publications. On le trouve en quantité dans les crachats vis-

(1) Simond, La propagation de la peste (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 625). — Hankin, La propagation de la peste (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 705).

(2) Bandi et Balistreri, De la diffusion de la peste par les voies digestives (*Zeitschr. für Hygiene*, XXXIII, 1899, p. 221).

(3) R. Pfeiffer, Die Aetiologie der Influenza (*Zeitschr. für Hygiene*, XIII, 1893, p. 357).

queux, d'un gris verdâtre, souvent très abondants, qu'il faut examiner récents et le plus possible venant directement des poumons, libres des sécrétions du larynx et de l'arrière-gorge, d'ordinaire très riches en microbes saprophytes (fig. 284). Les préparations sont colorées au bleu de Loeffler ou à la solution de Ziehl étendue d'eau ; il faut les laisser au moins une dizaine de minutes dans le bain colorant.

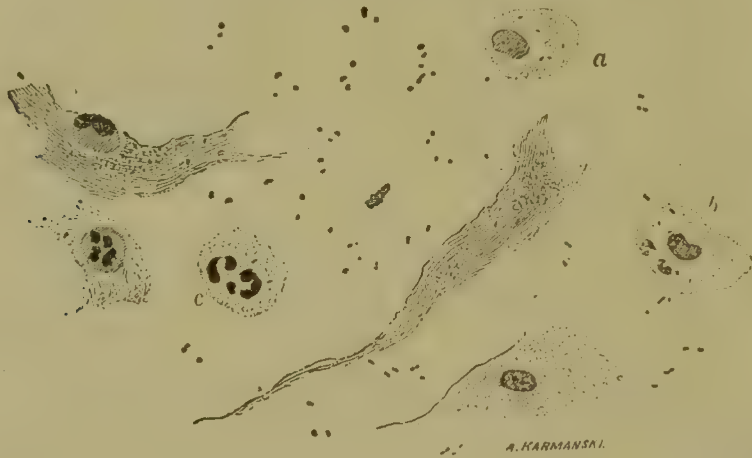


Fig. 284. — Crachats dans l'influenza. La plupart des Bacilles sont libres ; en *a*, *b* et *c*, quelques Bacilles sont inclus dans les cellules (Netter).

Morphologie. — Les *Bacilles de l'influenza* sont de très petits bâtonnets de 0,2 à 0,5 μ de large et d'une longueur deux à trois fois plus grande (fig. 285). Ils sont immobiles, souvent réunis par deux, parfois plus. Ils ne paraissent pas former de spores.

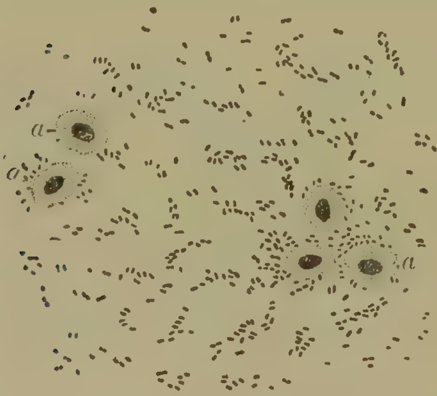


Fig. 285. — *Bacilles de l'influenza* d'une culture sur gélose à la surface de laquelle a été étalé un peu de sang de pigeon (Netter).

Ils se colorent assez difficilement aux couleurs d'aniline et se *décolorent* par la méthode de Gram.

Grassberger (1) signale dans certaines cultures la présence d'éléments anormaux, longs filaments simples ou ramifiés, parfois terminés en massue, d'autres fois moniliformes ; d'autres renflés en sphère, en poire, en fuseau, en cœur. Ce sont là des formes d'involution.

Cultures. — Les tentatives de culture sur milieux ordinaires ne donnent pas de résultat. Le développement se fait bien au contraire sur gélose additionnée de sang. Sur la surface libre de la gélose, il suffit d'étaler une ou quelques gouttes de sang recueilli aseptiquement. Une série d'expériences montra à Pfeiffer que c'était spécialement les globules rouges et uniquement leur hémoglobine qui rendaient le terrain propice au microbe. Le sang de l'homme ou de divers animaux convient très bien ; celui de pigeon a paru être devoir

(1) Grassberger, Zur Frage der Scheinfädenbildung in Influenzakulturen (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 353).

préféré. Les cultures ne se font qu'en présence de l'air ; elles ne se font pas au-dessous de 26°, ont leur optimum à 37° et cessent à 43 degrés.

Pour obtenir des cultures, Pfeiffer recommande le procédé suivant : Une petite quantité de crachats est diluée dans 1 ou 2 centimètres cubes de bouillon. On ensemence une petite quantité du mélange à la surface de la gélose au sang. Après vingt-quatre heures à 37°, la surface du milieu montre de nombreuses petites colonies ayant l'aspect de petites gouttelettes transparentes, incolores, tout à fait homogènes. Avec l'âge, le centre de ces colonies devient jaunâtre ou brunâtre. Ces colonies, comme l'a fait remarquer Kitasato, ne confluent jamais entre elles. Quand elles sont nombreuses, elles restent très petites ; plus isolées, elles atteignent 1 millimètre de diamètre. On les reporte facilement sur de la gélose ou du sérum à la surface desquels on a étalé quelques gouttes de sang stérile. On peut en obtenir de nombreuses générations, en ayant soin de les réensemencer tous les quatre jours. La vitalité des cultures ne se maintient guère qu'une quinzaine de jours.

Dans les milieux liquides additionnés de sang, le microbe se développe en donnant de petits flocons blancs.

Voges (1), Delius et Kolle (2), Grassberger (3), recommandent comme très bon milieu de la gélose mélangée à du sang défibriné. Le sang défibriné est mélangé à la gélose fondue et maintenue à 45° ; on fait solidifier rapidement en refroidissant.

Huber (4) dit obtenir d'excellents résultats en ajoutant à la gélose des préparations d'hémoglobine du commerce. Il s'est servi du produit connu sous le nom d'*hémoglobine du Dr Hommels*. C'est un liquide trouble, rouge foncé, de réaction neutre. Pour le stériliser, Huber le chauffe à 100°. A cette température, il se coagule, prend une couleur brune, devient compact et opaque. En ajoutant de la potasse jusqu'à réaction très alcaline, on empêche la coagulation, et en filtrant après un chauffage on sépare les albuminoïdes précipitables à la température employée. On ajoute une petite quantité du liquide à la gélose refroidie vers 50°-60°. Le *Bacille de l'influenza* pousse bien sur ce milieu, moins abondamment toutefois que sur la gélose au sang de Pfeiffer ; les colonies n'apparaissent que plus tard, vers le troisième ou quatrième jour. Elles y restent vivantes plus longtemps, une trentaine de jours au moins. Le bouillon additionné de cette même hémoglobine convient également bien.

D'après Pfeiffer, c'est le fer de l'hémoglobine qui serait la substance favorable de ces milieux.

Nasstiukoff (5) remplace l'hémoglobine par le jaune d'œuf. Le jaune d'œuf est mélangé à une solution de chlorure de sodium à 10 p. 100 et une petite quantité du mélange est additionnée à la gélose maintenue liquide au-dessous de 50°. Les caractères des colonies sont semblables à ceux observés sur les milieux au sang.

(1) Voges, Beobachtungen und Untersuchungen über Influenza und den Erreger dieser Erkrankung (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1894, nº 38, p. 868).

(2) Delius et Kolle, Untersuchungen über Influenza immunität (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIV, 1897, p. 327).

(3) Grassberger, Beiträg zur Bakteriologie der Influenza (*Zeitschr. für Hygiene*, XXV, 1897, p. 453).

(4) Huber, Ueber den Influenzabacillus (*Zeitschr. für Hygiene*, XIII, 1893, p. 357).

(5) Nasstiukoff, Mémoire en russe analysé in *Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 474.

Meunier (1) et Grassberger signalent comme particularité très intéressante l'action favorable qu'exercent les colonies du *Staphylocoque doré* sur le développement des colonies du *Bacille de l'influenza*. En ensemençant les deux microbes sur un même milieu, faisant par exemple quelques piqûres avec de la semence de Staphylocoque, on voit les colonies du *Bacille de l'influenza* apparaître plus vite et prendre des dimensions plus fortes autour des colonies de *Staphylocoque doré*, que dans les parties éloignées de ces dernières, ou dans une culture témoin ne renfermant que le premier de ces microbes, faite dans des conditions absolument identiques. C'est un exemple bien net de *satellitisme* dans le développement. D'autres microbes exercent aussi la même action favorable, mais d'une manière beaucoup moins évidente. Ce sont surtout ces colonies satellites qui présentent les formes d'involution signalées plus haut.

Les cultures conservent leur vitalité pendant deux à trois semaines; le microbe resterait vivant aussi longtemps dans les crachats humides. La dessiccation rapide le tue en deux heures, lente en dix à vingt heures. A 60°, il périt en dix minutes; à 100°, en une minute. Le sublimé à 1 p. 1000 le fait périr en dix minutes; l'acide phénique à 1 p. 100 en trente minutes.

Les animaux d'expérience paraissent généralement peu sensibles aux inoculations du Bacille de Pfeiffer. Chez les animaux vigoureux, on ne constate, avec des doses moyennes, qu'une réaction minime, un peu de fièvre. De très fortes doses tuent les lapins, en injection intraveineuse; l'inoculation intratrachéale détermine la mort, avec des symptômes et des lésions pulmonaires. Les animaux affaiblis sont plus sensibles. L'inoculation sous-cutanée détermine fréquemment des abcès. Cantani (2) dit avoir eu des résultats très positifs en inoculant les cultures directement dans le cerveau du lapin; il faut alors des doses bien moins élevées de cultures.

Chez l'homme atteint d'influenza, les Bacilles se trouvent particulièrement dans les sécrétions des voies respiratoires. On n'en rencontrerait jamais dans le sang, d'après Pfeiffer et Huber, contrairement à ce qu'avancent Canon (3), Klein (4), Meunier (5). Ces Bacilles se retrouvent dans les lésions pulmonaires, dans l'exsudat de la plèvre; on les trouve libres ou inclus souvent en grand nombre dans les éléments cellulaires.

D'après Pfeiffer, Huber et autres, le *Bacille de l'influenza* se retrouverait dans tous les cas de grippe et dans aucune autre affection. Le diagnostic peut parfaitement être établi par le seul examen microscopique des crachats.

On trouve fréquemment d'autres microbes pathogènes en association avec lui; les plus fréquents, de beaucoup, sont le *Pneumocoque* et

(1) Meunier, Satellitisme des colonies du Bacille de Pfeiffer dans les cultures mixtes (*Soc. de Biol.*, 11 juin 1898).

(2) Cantani, *Zeitschr. für Hygiene*, XXIII.

(3) Canon, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1892, p. 28 et 48.

(4) Klein, Report on Influenza (*Local government Board*, 1893, p. 85).

(5) Meunier, Dix cas de broncho-pneumonie infantile dus au Bacille de Pfeiffer. Études bactériologique, clinique et pathogénique (*Arch. gén. de méd.*, 1897).

le *Streptocoque pyogène*. Ces microbes jouent un rôle considérable dans les infections secondaires de la grippe et dans les très multiples complications de cette maladie (1).

Pfeiffer a décrit sous le nom de *Pseudo-influenzabacillus* un microbe qu'il a observé dans trois cas de broncho-pneumonie en dehors d'épidémie de grippe, à l'autopsie. Il présente des caractères d'aspect et de cultures semblables à ceux du *Bacille de l'influenza*; il n'en est peut-être pas à distinguer.

Le microbe décrit par Elmassian (2) serait aussi le véritable *Bacille de l'influenza*, qui pourrait alors être considéré comme un saprophyte habituel des voies respiratoires, comme le *Pneumocoque*, pouvant, sous certaines influences, devenir virulent et pathogène pour l'individu porteur.

Kraus (3) décrit une *septicémie du lapin* occasionnée par un petit Bacille qui présente de très grandes analogies avec celui de l'influenza de l'homme.

G. Roux, Jos. Teissier et Pition (4) ont rencontré chez les malades atteints de grippe une Bactérie assez polymorphe, qu'ils n'ont retrouvée dans aucune autre affection. Elle se trouve, assez inégalement toutefois, dans le sang pendant la période d'invasion fébrile et très constamment dans l'urine, en cultures pures, le jour de la défervescence.

Dans l'urine, c'est un petit diplobacille, mobile, présentant une petite capsule, et se colorant bien à la solution de Ziehl. Dans le sang, les éléments forment des chaînettes plus ou moins longues, lentement mobiles.

Il se cultive facilement sur les milieux ordinaires.

Sur plaques de gélatine, les colonies transparentes, irisées, ont les bords très découpés et le centre obscur; elles rappellent l'aspect des colonies du *Bacille typhique*. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur gélose, sa culture pousse très vite, sous forme d'une bande blanchâtre opaline, à contour sinueux.

Sur pomme de terre, la culture est typique; elle est très peu apparente, semblable à un fin glacis un peu humide, rappelant celle du *Bacille typhique*.

Le bouillon ne se trouble qu'après trente-six heures à 37°. Le trouble est très homogène ; on n'observe ni flocons ni voile. Les microbes de ces cultures en bouillon sont plus courts; ils ressemblent à des diplocoques.

Les cultures sont nettement pathogènes pour le lapin. Les troubles morbides déterminés auraient une certaine ressemblance avec la grippe humaine : accidents nerveux, vertiges, paraplégies, convulsions

(1) Galliard, La grippe, 1898. Paris, J.-B. Baillière.

(2) Elmassian, Note sur un Bacille des voies respiratoires et ses rapports avec le Bacille de Pfeiffer (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 621).

(3) Kraus, Ueber den Erreger einer influenzaartigen Kaninchenseuche (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIV, 1897, p. 396).

(4) G. Roux, Teissier et Pition, Nouvelles recherches bactériologiques et expérimentales relatives à la pathogénie de la grippe (*Arch. de méd. expér.*, IV, 1892).

parfois ; troubles intestinaux, lésions pulmonaires ou péricardiques, néphrite congestive ; évolution fébrile cyclique. Ces effets semblent résulter de l'action de toxines sécrétées par les microbes.

Jarron (1) donne également comme agent de l'influenza un gros diplobacille polymorphe qu'il dit trouver dans les crachats, l'urine, le sang, l'exsudat pleurétique, et qui est pathogène pour le lapin.

BACILLE DE LA PNEUMONIE CONTAGIEUSE DU COBAYE Tartarowsky.

Les cobayes sont sujets à un certain nombre de maladies infectieuses qui déciment trop souvent les élevages des laboratoires. Ils prennent facilement une variété de pseudo-tuberculose (p. 551) ; les femelles pleines meurent souvent d'une sorte de *septicémie puerpérale du cobaye* qui se transmet aux jeunes, mais épargne les mâles adultes (2). Tartarowsky (3) a décrit une pneumonie contagieuse très meurtrière due à un Bacille qu'il a étudié.

Les animaux morts présentent des lésions des organes respiratoires tout à fait typiques. A l'ouverture de la cage thoracique, on trouve souvent une pleurésie fibrineuse avec exsudat épais, presque incolore, ou un peu rougeâtre, trouble et filant. Les poumons sont marbrés de taches rouge foncé, rouge brun ou jaune ; les parties atteintes sont compactes, hépatisées, augmentées de volume. La muqueuse des bronches est congestionnée, d'un rouge marbré, recouverte d'un mucus épais, parfois spumeux ; la muqueuse nasale est rouge, enduite d'un mucus filant et trouble. Le cœur est presque toujours flasque, jaunâtre, en état de dégénérescence graisseuse, ou simplement pâle, anémié, brunâtre. Les autres organes sont intacts ou peu modifiés.

Dans l'exsudat pleural ou surtout les parties malades du poumon, on trouve toujours de petits Bacilles de 1 à 2 μ de long sur 0,4 à 0,6 μ de large, groupés deux à deux, assez semblables au *Bacille de la morve*. Ils ne se rencontrent ni dans le sang ni dans les autres organes. Ils sont toujours immobiles et ne présentent jamais de spores.

Ils se colorent facilement aux couleurs d'aniline et se *décolorent* par la méthode de Gram.

On les isole facilement en culture ; ils végètent sur tous les milieux, en présence d'air seulement, pas du tout en milieu acide et au mieux en milieu légèrement alcalin.

Sur *plaques de gélatine*, les colonies n'apparaissent que vers le quatrième ou le cinquième jour; celles de la surface prennent la forme de petits disques arrondis, à bords nets, transparents, avec un noyau plus foncé, un peu granuleux, de couleur jaune brunâtre clair. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur *gélatine en piqûre*, il se forme à la surface un petit disque transparent et dans le canal des petites colonies rondes, transparentes, jaunâtres.

(1) Jarron, Étude bactériologique de la grippe. Thèse de Bordeaux, 1894.

(2) Schantyr, Zur Aetiologie des Gebärfiebers der Meerschweinchen (*Deutsche Zeitschr. für Thiermed.*, XVIII, 1891).

(3) Tartarowsky, La pneumonie contagieuse des cobayes; une nouvelle maladie infectieuse (*Arch. des sc. biol. de Saint-Pétersbourg*, VI, 1898, p. 255).

Sur *gélose en strie*, le développement donne une bande assez large, transparente, un peu bleuâtre, qui ternit vite.

Sur *sérum coagulé*, la culture est mince, blanchâtre, brillante.

Sur *pomme de terre*, il se forme une pellicule jaune brunâtre.

Dans le *bouillon*, il apparaît, en vingt-quatre heures, un trouble uniforme ; les jours suivants, le liquide abandonne un dépôt épais, jaunâtre.

Le *lait* n'est pas coagulé.

Les cultures se conservent vivantes pendant plusieurs mois.

Les produits pathologiques frais et les cultures jeunes sont virulents.

L'inoculation intrathoracique reproduit absolument la maladie primitive.

On arrive au même résultat en badigeonnant la muqueuse nasale.

L'inoculation sous-cutanée donne une tuméfaction locale, douloureuse, qui s'ouvre après un certain temps et laisse voir un contenu solide, presque sec, jaunâtre, et des bords rouge vif. L'animal maigrit et meurt en quinze jours. On ne trouve que peu de lésions à l'autopsie ; on ne rencontre de microbes qu'au point d'inoculation.

L'inoculation intrapéritonéale tue le cobaye en trente à trente-six heures, avec des lésions marquées de péritonite et une pleurésie légère.

Parmi les autres animaux d'expérience, le lapin seul est réceptif, mais ne prend pas toutefois la maladie spontanément.

Phisalix (1) décrit une *septicémie du cobaye* occasionnée par un Bacille très court, de 0,5 μ de long, immobile, se décolorant à la méthode de Gram, ne liquéfiant pas la gélatine, très pathogène pour le lapin, la souris, le pigeon, sans action sur le rat.

BACILLUS CRASSUS SPUTIGENUS Kreibohm.

Kreibohm (2) l'a rencontré deux fois dans la salive et dans l'enduit lingual. Ce sont de courts bâtonnets à extrémités arrondies, qui restent souvent unis à plusieurs après la division et forment ainsi des filaments moniliformes, plus ou moins longs, flexueux. Ils se colorent bien par les procédés ordinaires et *restent colorés* par la méthode de Gram. Ils sont entourés d'une capsule qui se colore dans certaines préparations.

En culture sur plaques, il se forme dans la gélatine de petites colonies ovales, jaunâtres, granuleuses ; celles de la surface sont d'un blanc grisâtre, à bords arrondis, bombées. En piqûre, on obtient, en vingt-quatre heures, un clou typique. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur pomme de terre, il se développe une couche grisâtre, épaisse, un peu visqueuse.

Cette espèce tue les souris et les lapins en quarante-huit heures ; on trouve de nombreuses Bactéries dans le sang des animaux morts, surtout dans le sang du foie. De très fortes doses injectées dans les veines de chiens et de lapins les tuent en trois à dix heures, après leur avoir causé des selles diarrhéiques sanguinolentes. A l'autopsie, on trouve des signes d'une gastro-entérite très aiguë.

(1) Phisalix, Sur une septicémie du cobaye (*Soc. de Biol.*, 16 juillet 1898).
(2) *In* Flugge, Die Microorganismen, 1897, p. 431.

BACILLUS PSEUDO-PNEUMONICUS Passet.

Il a été isolé deux fois par Passet (1) du pus d'abcès fermés. Ce sont de très courts bâtonnets dont la longueur peut n'être guère supérieure à la largeur. La largeur est de 0,87 μ et la longueur maxima paraît être 1,16 μ. Ils sont immobiles et, dans les préparations de liquides de l'organisme ou dans les cultures faites à 37°, possèdent une capsule qui se trouve faiblement colorée dans certaines préparations.

Sur plaques de gélatine, cette espèce forme de petites colonies grisâtres, bombées, qui ne renferment que des coccus. En piqûre, il ne se produit aucune culture dans le canal, mais seulement à la surface, au bout de vingt-quatre heures, une colonie grisâtre, brillante, très proéminente. Au bout de trois à quatre semaines, la gelée prend une teinte brunâtre dans ses couches supérieures et dégage une faible odeur de putréfaction. La gélatine n'est pas liquéfiée.

La culture sur pomme de terre est épaisse, brillante, blanchâtre; il ne s'y forme jamais de bulles de gaz. Sur sérum, c'est un mince enduit grisâtre.

Passet a inoculé des cultures à des souris, des rats, des cobayes et des lapins. L'injection dans les séreuses produit une inflammation vive, accompagnée de suppuration ; l'injection sous-cutanée n'a que des effets peu marqués et les inhalations ne déterminent aucun trouble appréciable.

Ce microbe n'est probablement autre que le *Pneumobacille de Friedlaender* (p. 771).

BACILLUS PNEUMONICUS AGILIS Schou.

Ce sont des bâtonnets gros et courts, mobiles, qui ressemblent parfois à des coccus ovoïdes, que Schou (2) a rencontrés chez des lapins, dans trois cas de pneumonie consécutive à la section du pneumogastrique et dans le mucus buccal d'un lapin sain. Neumann (3) l'a trouvé chez l'homme, dans un cas de pneumonie. Ils se colorent aisément par les couleurs d'aniline et se *décolorent* par la méthode de Gram.

Les cultures s'obtiennent aisément ; c'est un anaérobie facultatif.

En culture sur plaques, ils forment de petites colonies rondes, granuleuses, de couleur sombre. Après vingt-quatre heures, elles ont grandi et se montrent entourées d'une couronne de minces filaments rayonnants ; la liquéfaction de la gélatine se produit très vite.

En piqûre dans un tube de gélatine, la gelée est liquéfiée en peu de temps; il se dépose un sédiment épais, blanchâtre. Le développement sur sérum est très lent; le milieu est un peu liquéfié.

Les cultures sur pomme de terre s'étendent très vite et couvrent toute la surface de la tranche d'une couche rougeâtre, de couleur chamois.

(1) Passet, Untersuchungen über die Aetiologie der eitrigen Phlegmonen des Menschen. Berlin, 1885.

(2) Schou, Untersuchungen über Vaguspneumonie (*Fortschr. der Med.*, 1885, n° 15).

(3) Neumann, Zur Kenntniss des Bacillus pneumonicus agilis (*Zeitschr. für klin. Med.*, XIII, 1887).

Les injections de cultures aux lapins, dans la trachée, dans la plèvre et dans les poumons, amènent la mort en peu de temps, avec des symptômes pneumoniques analogues à ceux observés dans l'affection primitive.

BACILLUS COPROGENES FŒTIDUS Schottelius.

Schottelius (1) l'a rencontré d'abord dans les glandes mésentériques et la rate de porcs atteints de rouget ; il l'a retrouvé depuis dans l'intestin de ces animaux à l'état normal.

Ce Bacille ne joue aucun rôle dans l'affection où il a été découvert ; les ulcérations intestinales, fréquentes dans cette maladie, lui ont simplement permis de pénétrer dans le sang et de gagner des organes voisins.

Ce sont des bâtonnets semblables au *Bacillus subtilis*, mais un peu plus courts, à extrémités arrondies et toujours immobiles. Lorsque l'oxygène est en abondance, ils donnent facilement des spores ; ils n'en produisent jamais dans l'organisme.

En culture sur plaques, on observe en peu de temps, dans la gélatine, de petites colonies jaune pâle qui, arrivées à la surface, s'y étalent en une mince couche grisâtre, transparente. La gélatine n'est pas liquéfiée et la culture dégage vite une forte odeur putride.

L'effet pathogène des cultures est peu marqué. De faibles doses ne déterminent rien ; de fortes doses ont une action toxique sur les lapins ; les porcs sont tout à fait réfractaires.

BACILLUS CAVICIDA Brieger.

(*Bactérie de la fermentation propionique.*)

Cette espèce a été isolée des fèces et de substances putréfiées par Brieger (2), qui a surtout étudié la fermentation spéciale qu'elle provoque aux dépens des matières sucrées.

Ce sont de petits bâtonnets dont la dimension varie beaucoup ; en général, la longueur est le double de la largeur.

Ils donnent en cultures sur plaques de gélatine des colonies d'aspect très caractéristique. Elles sont formées d'anneaux blanchâtres, concentriques, irréguliers, affectant une disposition qui rappelle celle des plaques d'écaille de la carapace dorsale des tortues. La gélatine n'est pas nettement liquéfiée ; elle devient visqueuse.

Cette Bactérie croît bien sur pomme de terre, où elle forme une couche jaune sale, et sur sérum humain solidifié. Elle se développe au mieux à 35°-37° sur le blanc d'œuf cuit et les matières amylacées.

Elle décompose les solutions sucrées et produit alors de l'acide propionique et des traces d'acide acétique.

Les cultures sont toxiques pour les cobayes qu'elles tuent, en injections sous-cutanées, de trois à vingt-quatre heures. Les animaux inoculés perdent tout appétit, sont pris d'une forte dyspnée et de battements de cœur tumultueux, vomissent et meurent subitement. On

(1) Schottelius, Der Rothlauf der Schweine. Wiesbaden, 1885.

(2) Brieger, Ueber Spaltungsproducte der Bakterien (*Zeitschr. für phys. Chemie*, VIII, 1884, et *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1884, nº 14).

trouve de nombreux Bacilles dans le sang du cœur et de tous les organes. Les lapins et les souris résistent beaucoup plus et ne sont atteints que par des doses considérables.

Ces mêmes cultures, introduites dans le tube digestif avec les aliments, n'ont aucun effet nuisible.

A rapprocher probablement du *Bacillus coli communis* ou du *Bacillus lactis aerogenes*.

BACILLUS SUBTILIFORMIS Bienstock.

(*Bacille I de Bienstock.*)

D'après Bienstock (1), cette espèce se retrouve constamment dans les selles de l'homme. Les bâtonnets, de 5 μ de longueur en moyenne, sont absolument semblables à ceux du *Bacillus subtilis*, mais toujours immobiles ; ils restent souvent unis en longs filaments. Dans les articles isolés, comme dans ceux qui forment les filaments, il se produit des spores elliptiques très réfringentes, se colorant dans le bain chaud d'eau d'aniline additionnée de fuchsine et ne se décolorant pas par l'acide nitrique au tiers. A la germination, la membrane de la spore ne se rompt pas, mais les deux extrémités s'allongent d'abord en prenant une largeur moindre que celle de la partie médiane ; il se produit ainsi une forme en fuseau, renflée au milieu. Peu après, le bâtonnet se régularise et devient droit.

Les cultures s'obtiennent facilement sur tous les milieux ; l'espèce présente un optimum de température de 37 à 39 degrés.

Sur gélose, il se forme une large culture plissée en forme de mésentère, d'une coloration blanc jaunâtre.

Ce Bacille ne semble déterminer aucune espèce de fermentation et est sans effet sur les souris, auxquelles Bienstock l'a inoculé.

BACILLUS SIMILIS Bienstock.

(*Bacille II de Bienstock.*)

Ce Bacille, que Bienstock (2) a rencontré fréquemment aussi dans les fèces, est en tout semblable au précédent, comme formes, dimensions et mode de sporulation. Il s'en distingue par l'aspect de ses cultures. Il produit, sur gélose, une couche blanche, brillante, d'abord lisse, puis inégale, qui prend la forme d'une grappe. Il croît très rapidement, envahit en douze heures toute la surface du milieu nutritif. Il n'a pas d'action physiologique plus marquée que le premier.

BACILLUS ALBUMINIS Bienstock.

Il accompagne fréquemment les espèces précédentes (3). Les bâtonnets mesurent 3 μ de long et sont très mobiles. Dans certaines conditions, ils forment de longs filaments qui peuvent se segmenter en

(1) Bienstock, Ueber die Bacterien der Fäces (*Zeitschr. für klin. Med.*, XIII, 1re et 2e p.).
(2) Id., *loc. cit.*
(3) Id., *loc. cit.*

articles de 3 μ à 4 μ de long : c'est dans ces articles que se produisent surtout les spores. La spore prend naissance à une extrémité du bâtonnet et est beaucoup plus large que lui ; cette partie est toujours en avant dans le mouvement.

Sur gélose, on obtient une couche homogène, blanchâtre, à reflets nacrés au début, qui devient jaunâtre assez longtemps après.

Cette espèce, d'après Bienstock, est un agent très énergique de décomposition de l'albumine, qu'elle attaque dans un gaz inerte comme dans l'air, mais plus lentement. Ensemencée dans de la tyrosine, elle la décompose entièrement en ammoniaque, acide carbonique et eau.

BACILLUS BIENSTOCKII Bienstock.

Bienstock (1) l'a isolé des selles, où sa présence est loin d'être aussi constante que celle de ses autres Bactéries. Ce sont de très petits Bacilles, ressemblant à ceux de la *Septicémie de la souris*, mais un peu plus épais ; ils mesurent 0,8 μ de long sur 0,4 μ de large et sont tout à fait immobiles. Ils ne croissent que très lentement sur gélose ; après plusieurs semaines, ils ne forment qu'un léger voile, à peine visible, s'étendant à 1 millimètre de chaque côté de la strie d'inoculation.

L'inoculation sous-cutanée de cultures pures à des souris détermine un gonflement œdémateux à l'endroit de la piqûre ; la mort arrive en vingt-quatre heures. La sérosité de l'œdème contient beaucoup de Bacilles, le sang du cœur très peu. La même opération à des lapins occasionne du gonflement et des rougeurs rappelant les plaques d'érysipèle ; l'animal succombe au bout d'une huitaine de jours.

BACILLUS SAPROGENES I Rosenbach.

Rosenbach (2) l'a isolé d'amas caséeux d'odeur putride, recueillis dans les replis des amygdales.

Ce sont de gros bâtonnets qui présentent souvent une spore terminale.

Cultivés sur la gélose, en strie, ils donnent une bande opaque, gris jaunâtre, épaisse, légèrement visqueuse, à bords ondulés. La croissance est lente ; il se développe, au bout d'un mois, une odeur putride désagréable. Sur sérum, cette odeur est beaucoup plus intense.

C'est un anaérobie facultatif. Sans oxygène, le fumet des cultures est repoussant.

Cette espèce ne semble pas être pathogène. Des inoculations dans la plèvre et l'articulation du genou de chiens et de lapins n'ont produit aucun résultat.

BACILLUS SAPROGENES II Rosenbach.

Rosenbach (3) l'a isolé d'une sueur de pied fétide et abondante.

Ce sont des bâtonnets plus courts et plus minces que les précédents,

(1) Bienstock, *loc. cit.*

(2) Rosenbach, Microorganismen bei den Wundinfectionskrankheiten. Wiesbaden, 1883.

(3) Rosenbach, *loc. cit.*

qui croissent très rapidement sur gélose. Il se produit en vingt-quatre heures, sur toute la surface du milieu, un grand nombre de petites gouttelettes hyalines, qui confluent et forment une couche d'abord tout à fait transparente, puis opaque et visqueuse.

Les cultures dégagent l'odeur caractéristique de sueur de pieds.

C'est un anaérobie facultatif.

Lorsqu'on le cultive à l'abri de l'air, la puanteur des cultures est moins forte.

Les cultures, inoculées à des lapins, les font périr avec des symptômes d'infection purulente.

BACILLUS SAPROGENES III Rosenbach.

Il a été trouvé par Rosenbach (1) dans des fragments de moelle putréfiée, prise dans des os de membres gangrenés. Ce sont des Bacilles très courts, à extrémités arrondies, donnant l'illusion de Microcoques.

Inoculés en strie sur gélose, ils donnent, au bout de huit jours, une bande grisâtre, très fluide, non visqueuse. Il se dégage une odeur de putréfaction.

C'est aussi un anaérobie facultatif ; il détermine la putréfaction de l'albumine plus rapidement sans air qu'en sa présence.

Ses propriétés pathogènes sont peu marquées.

Inoculé sous la peau ou dans l'articulation du genou de lapins, il ne cause qu'une suppuration passagère, accompagnée d'une infiltration jaunâtre diffuse. Il se développe en même temps une forte odeur de putréfaction.

BACILLUS OXYTOCUS PERNICIOSUS Wyssokowitsch.

Wyssokowitsch (2) a isolé cette espèce de vieux lait caillé.

Ce sont de courts Bacilles à extrémités arrondies, un peu plus courts et plus épais que le *Bacillus lacticus*.

Ils forment, sur plaques de gélatine, de petites colonies jaunâtres, granuleuses, circulaires, à bords nets. Celles de la surface atteignent $1^{mm},5$ de largeur ; elles sont grisâtres et proéminentes. Elles ne produisent aucune liquéfaction.

En piqûre sur gélatine, la culture affecte d'abord la forme de clou, puis la colonie superficielle s'étend et recouvre toute la surface libre.

Ce Bacille provoque la coagulation du lait, qui devient acide, mais ne dégage aucune odeur.

Les cultures n'ont d'effets pathogènes sur les souris et les lapins qu'à doses massives. Alors, en injections intraveineuses, elles peuvent déterminer la mort en moins d'un jour. A l'autopsie, le symptôme caractéristique est une très vive inflammation de la muqueuse intestinale.

A rapprocher peut-être du *Pneumobacille de Friedlaender*.

(1) Rosenbach, *loc. cit.*
(2) *In* Flugge, Die Mikroorganismen, 1886.

BACILLUS SEPTICUS AGRIGENUS Nicolaier.

Ce sont de très courts Bacilles qui ont été isolés par Nicolaier (1) de la terre de champs récemment fumés. Ils sont surtout remarquables par leur action pathogène. Les cultures sont virulentes pour les souris et les lapins qu'elles tuent de douze à trente-six heures. Les symptômes sont voisins de ceux des septicémies du lapin précédemment décrites. On trouve des Bactéries dans le sang du cœur et des différents organes; elles semblent de préférence s'accoler aux globules rouges, sans toutefois pénétrer à leur intérieur.

Les cultures s'obtiennent facilement sur la gélatine, qu'elles ne liquéfient pas. Les colonies des cultures sur plaques sont de petits disques granuleux, à centre brunâtre, à périphérie plus grise; les deux zones sont séparées par un anneau plus foncé. Plus tard, ces différences de coloration disparaissent, la colonie est homogène. En piqûre, il se forme à la surface une couche mince, peu caractéristique.

Les souris inoculées meurent de douze à vingt-quatre heures; les lapins, de vingt-quatre à trente-six heures.

Les organes ne paraissent pas altérés. Le sang de tout le corps contient de nombreuses Bactéries, qui ont de la tendance à s'accoler aux globules rouges.

Ce microbe appartient probablement au groupe du *Bacille du choléra des poules*.

BACILLUS HEMINECROBIOPHILUS Arloing.

C'est un microbe qu'Arloing (2) a rencontré au centre d'un ganglion caséeux.

Il se cultive bien sur les milieux ordinaires, avec une variabilité assez grande. Sur gélatine, il forme des Bacilles de 3 à 4 μ de long; dans le bouillon, à l'air, des Bacilles courts et épais, presque des Microcoques; sur pomme de terre, des Bacilles courts et fins; dans le bouillon, en présence d'acide carbonique, de longs Bacilles de 8 à 20 μ. C'est un anaérobie facultatif.

Les cultures n'ont aucun effet pathogène marqué sur les animaux d'expérience, même en injection intraveineuse à hautes doses.

Par contre, si l'on injecte de ces cultures dans un tissu qui commence à se mortifier, comme le testicule de bélier privé de circulation par l'opération du bistournage, le tissu devient rapidement œdémateux, crépitant, se détruit vite; en même temps, il se produit des phénomènes généraux graves, qui peuvent amener la mort. On n'observe que des symptômes très atténués lorsqu'on injecte le liquide dans un testicule bistourné depuis assez longtemps et déjà mortifié, jamais rien en opérant sur un testicule sain.

Les bouillons de culture renferment une substance précipitable par l'alcool, voisine des diastases, possédant des propriétés pyrétiques et vomitives.

(1) D'après Flugge, Die Microorganismen, 1886, p. 257.
(2) Arloing, *C. R. de l'Acad. des sc.*, CVII, 1888, p. 1167, CVIII, 1889, p. 458 et 532.

BACILLUS PYOCYANEUS Gessard.

(*Bacille du pus bleu, Bacille pyocyanique.*)

Atlas de microbiologie, Pl. xix.

On sait depuis longtemps que la coloration bleue des linges de pansement, observée fréquemment dans les hôpitaux, est due à la présence, dans le pus, d'une Bactérie spéciale dont la particularité la plus intéressante est la sécrétion d'un pigment bleu, étudié sous le nom de *pyocyanine*. Fordos (1) a pu isoler cette substance et l'obtenir cristallisée; une étude très complète en a été faite par Gessard (2). D'autres recherches de Charrin (3) et de Wasserzug (4) ont mis en lumière les rapports qui existent entre la Bactérie et le pigment bleu, la pyocyanine de Fordos. Charrin a fait, en particulier, une véritable monographie de cette espèce et a pu tirer de ses observations des généralisations d'un très haut intérêt qui ont fait de l'étude de ce microbe un véritable type pour l'étude des microbes en général et des pathogènes en particulier. Les recherches ultérieures ont montré que cette espèce était beaucoup plus répandue qu'on ne le pensait dès l'abord et ont établi son rôle pathogène certain pour l'homme et les animaux.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les Bacilles sont de courts bâtonnets très mobiles (fig. 286); ils mesurent de 1 μ à 1,5 μ de long, sur 0,5 à 0,6 μ de large; leur longueur peut donc dépasser de peu la largeur. Ils sont réunis en chaînes par deux, trois ou plus, ou en petits amas.

Dans des conditions spéciales, cette forme, que l'on est en droit de considérer comme normale, varie dans d'assez larges limites.

L'addition d'acides ou d'antiseptiques aux bouillons de cultures, en proportions insuffisantes pour causer la mort des Bactéries, détermine des modifications secondaires de formes qu'ont signalées Guignard et Charrin (5). On peut observer dans ces conditions, en faisant varier la composition du milieu, de courts bâtonnets, de longs Bacilles, des filaments droits ou ondulés (fig. 282 à 296); de plus, on n'observe pas de formation de pyocyanine. La figure 286 représente le microbe à l'état normal, cultivé dans du bouillon de bœuf pur.

En ajoutant aux cultures de l'acide phénique ou de la créosote, en proportions insuffisantes pour retarder la végétation, on obtient des formes qui se rapprochent des coccus (fig. 292). Avec le naphtol à la dose de 0gr,20 à 0gr,25 p. 100, on observe d'assez longs Bacilles, parfois

(1) Fordos, Recherches sur la matière colorante des suppurations bleues : Pyocyanine (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LI, 1869, p. 215).

(2) Gessard, De la pyocyanine et de son microbe. Thèse de Paris, 1882. — *Id.*, Nouvelles recherches sur le microbe pyocyanique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, nº 2). — *Id.*, Des races du Bacille pyocyanique (*Ibid.*, V, 1891, nº 1).

(3) Charrin, *Soc. anat.*, décembre 1884 ; *Soc. de Biol.*, 1887, 1888, 1889 et 1890. Et : La maladie pyocyanique, 1889.

(4) Wasserzug, Sur la formation de la matière colorante chez le *Bacillus pyocyaneus* (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, I, 1887, nº 12).

(5) Guignard et Charrin, Sur les variations morphologiques des microbes (*C. R. de Acad. des sc.*, 5 décembre 1887).

réunis en filaments (fig. 287), formant souvent un feutrage à la surface de la culture. De même avec 4 p. 100 d'alcool (fig. 288). Avec l'acide borique à la dose de 0gr,06 p. 100, les bacilles s'allongent en longs filaments (fig. 290) ; à la dose de 0gr,7 p. 100, on obtient des éléments courbés et même de très belles formes spirillaires (fig. 291). On observe de très beaux filaments (fig. 288) avec une dose de 0gr,015 p. 100 de

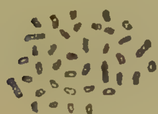


Fig. 286. — Forme normale dans le bouillon de bœuf.



Fig. 287. — Culture dans du bouillon additionné de 0gr,02 p. 10 de naphtol, après 48 heures.

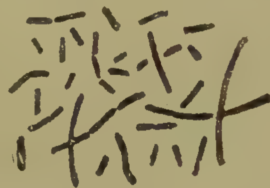


Fig. 288. — Culture dans du bouillon additionné de 4 p. 100 d'alcool, après 24 heures.

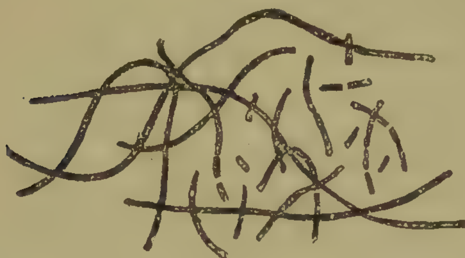


Fig. 289. — Culture dans du bouillon additionné de bichromate de potasse à 0gr,015 p. 100, après 15 heures.

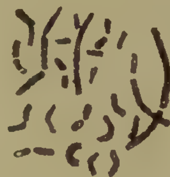


Fig. 290. — Culture dans du bouillon additionné de 0gr,06 p. 100 d'acide borique après 48 heures.



Fig. 291. — Culture dans du bouillon additionné de 0,70 p. 100 d'acide borique, après 6 jours.

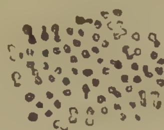


Fig. 292. — Culture âgée de quelques semaines dans du bouillon additionné de 0gr,10 p. 100 de créosote.

Fig. 286 à 292. — Formes diverses que prend le *Bacille du pus bleu* dans les cultures auxquelles on ajoute des antiseptiques (d'après Guignard et Charrin).

bichromate de potasse. Mais, quelle que soit la forme prise sous l'influence défavorable de l'antiseptique, dès qu'on transporte le microbe dans un bouillon pur, sur la gélose ou sur la gélatine, il reprend la forme qu'on est en droit de considérer comme normale et la propriété de faire de la pyocyanine qu'il pouvait avoir perdue, ce qui démontre en toute évidence que ces variations de forme n'ont qu'une importance toute secondaire.

Coloration. — Le *Bacille pyocyanique* se colore facilement aux couleurs d'aniline. Il se *décolore* par la méthode de Gram et par la méthode

de Claudius. Toutefois, cette décoloration n'est pas constante. Les méthodes spéciales de coloration montrent la présence d'un seul cil à une extrémité de chaque élément.

Cultures. — C'est une espèce aérobie, qui peut vivre toutefois en l'absence d'oxygène, mais alors sans produire sa matière colorante. Elle se cultive facilement à la température ordinaire et mieux à l'étuve. Elle peut même végéter, mais très lentement, à de basses températures, vers 7 degrés (1) ; d'un autre côté, elle se développe encore à 42 degrés.

Cultures sur plaques de gélatine. — On observe, au bout de vingt-quatre heures à 20°, à un faible grossissement, de petites colonies rondes, jaunâtres, granuleuses, à bords sinueux, transparents. Elles grandissent vite et, après quarante-huit heures, celles qui sont près de la surface ont atteint trois quarts de millimètre ; elles ont un centre jaune, entouré d'un anneau strié un peu granuleux; les bords sont encore nets ; elles commencent à s'enfoncer dans la gelée. Les bords se fondent alors peu à peu dans la gélatine qui se liquéfie progressivement. La gelée prend une teinte verdâtre autour des colonies. Le cercle de liquéfaction grandit et donne bientôt un entonnoir, au fond duquel se trouve le restant de la colonie primitive.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* dans un tube de gélatine, il n'y a pas encore de changement bien appréciable au bout de vingt-quatre heures. La liquéfaction devient apparente à la surface après quarante-huit heures et de très petites colonies se sont développées dans le canal. Le troisième jour, il s'est formé une petite cupule, qui s'accroît le jour suivant et s'entoure d'une mince zone colorée en vert clair; la liquéfaction commence à progresser dans la piqûre. Après huit jours, la cupule de liquéfaction a atteint les bords du tube, la nuance verte s'est étendue dans la gelée à 1 centimètre de hauteur environ. La liquéfaction progresse très lentement et, parallèlement à elle, la coloration.

Cultures sur gélose. — Il se forme une couche muqueuse, grisâtre, semi-transparente, mal délimitée, qui, au bout de quelques jours, gagne des reflets nacrés. En même temps, la partie supérieure de la gelée montre une belle fluorescence verte, qui s'étend graduellement aux couches profondes. Dans les vieilles cultures, la surface est souvent toute nacrée, comme parsemée de fragments d'écailles de poisson; la gelée est colorée en vert brun noirâtre. Le reflet nacré semble dû à la présence d'amas de longs cristaux en aiguille, très probablement de phosphates ou d'oxalates.

Cultures sur pomme de terre. — Le *Bacille du pus bleu* y donne une couche muqueuse brunâtre, qui, en quelques jours, montre des reflets nacrés. Lorsqu'on enlève une portion de la colonie, la substance sous-jacente du tubercule, exposée à l'air, prend une teinte verte qui s'accentue par l'ammoniaque et vire au rouge sous l'influence des acides. En vieillissant, toute la pomme de terre se colore en brun rougeâtre foncé.

Cultures dans le bouillon. — Le bouillon ensemencé se trouble rapidement et prend une teinte verdâtre, souvent avant la fin du pre-

(1) Havemann, Ueber das Wachstum von Mikroorganismen bei Eisschranktemperatur Thèse de Rostock, 1894.

mier jour. Il apparaît à la surface, vers le troisième jour, une membrane blanche, sèche, finement chagrinée, fragile, qui plus tard s'épaissit un peu et devient écailleuse, brunâtre, très cassante. En même temps, le liquide se fonce, devient vert sale sombre et montre un sédiment blanc peu abondant. Dans les vieilles cultures, la teinte peut passer au jaune brun. La coloration verte est due au mélange de pyocyanine bleue avec le liquide coloré en jaune et surtout à un pigment fluorescent vert. Certains bouillons incolores montrent une teinte bleue bien nette, au moins au début; plus tard il se forme, par transformation de la pyocyanine, une autre substance jaune, la *pyoxanthose*, dont la teinte change l'aspect du liquide.

Cultures dans le lait. — Ensemencé dans du lait, il en précipite la caséine, puis la dissout; en même temps il se dégage de l'ammoniaque et la masse devient fortement alcaline. Le liquide prend une teinte verdâtre.

Cultures dans l'urine. — Il peut se développer dans l'urine normale; d'après Le Noir (1), il y perdrait la propriété de produire du pigment, qu'il manifesterait après addition de sucre.

Cultures dans les liquides minéraux. — Le *Bacille pyocyanique* y végète facilement, sur certains principalement, tels que le liquide d'Arnaud et Charrin (p. 175), mais il peut présenter des particularités importantes. Ainsi, dans ce dernier liquide, il ne produit pas de pyocyanine, mais seulement de la fluorescence, bleue d'abord, puis verte ensuite, à cause de la production d'ammoniaque. Les milieux minéraux dépourvus de source d'azote utilisable ne donnent même plus de fluorescence. Il en est de même pour ceux privés tout à fait de phosphates.

En remplaçant, dans le liquide d'Arnaud et Charrin, l'asparagine par des sources d'azote différentes, à la même dose, on ne constate plus de fluorescence, et un très faible développement ou même rien du tout. Ceci s'observe surtout avec les sels ammoniacaux à acide organique. En prenant du glucose ou de la glycérine comme source de carbone, on obtient de la fluorescence avec la plupart de ces sels organiques. On peut admettre que le milieu minimum nécessaire à la fonction fluorescigène se compose d'un sel minéral azoté, d'un hydrocarboné et d'un phosphate alcalin ou alcalino-terreux.

Au point de vue de la formation de pyocyanine, le citrate, le succinate et le lactate d'ammoniaque seuls, additionnés de 1 p. 1 000 de glucose et de glycérine, permettent d'en obtenir.

Propriétés biologiques.

Vitalité et virulence. — Le *Bacille pyocyanique* est un microbe assez résistant. Il peut se retrouver longtemps vivant dans le milieu extérieur, lorsque des causes spéciales de destruction n'interviennent pas.

Sa virulence est indiscutable; bien que sujette à de très grandes variations, elle paraît être une des propriétés les plus persistantes de cette espèce.

(1) Le Noir, Infection urinaire mixte. Présence du Bacille pyocyanique dans l'urine de l'homme (*La Médecine moderne*, 1896, p. 56).

Action des conditions de milieu. — A l'air, le *Bacille pyocyanique* est détruit assez vite, surtout si la dessiccation intervient ; par contre, à l'abri de l'air et dans un milieu humide, il peut résister pendant longtemps.

On a vu qu'il supportait sans périr des froids intenses, mais pouvait alors être modifié dans ses propriétés (p. 72). La chaleur l'impressionne plus ; à 60°, il périt en dix minutes, bien qu'il puisse encore végéter assez abondamment à 42°. La forte lumière le détruit rapidement (p. 80). La pression, l'électricité ont aussi des effets intéressants sur certaines de ses propriétés, surtout le pouvoir chromogène et la puissance toxique (p. 83 et 84).

Action des antiseptiques. — D'une façon générale, on peut considérer ce microbe comme résistant assez bien aux antiseptiques habituels ; il faut des doses convenables de substances actives et un contact de quelque durée pour obtenir la destruction certaine. Les doses faibles n'amènent que des changements morphologiques ou biologiques qui peuvent alors n'être que passagers.

Produits formés dans les cultures. — Les milieux habituels sont profondément modifiés par la végétation de cette espèce.

Les albuminoïdes sont fortement attaquées, le microbe produisant des ferments trypsiques. Les produits de leur décomposition sont encore peu connus. Charrin et Desgrez (1) signalent la formation, dans les bouillons, d'une substance mucinoïde analogue à la mucine animale ou végétale.

Jakowski (2) signale, dans les cultures, l'hydrogène sulfuré, le mercaptan de méthyle, un peu d'alcool, l'acide butyrique, l'acide acétique, le scatol, de l'acide carbonique et de l'hydrogène.

Les cultures ne donnent pas la réaction de l'indol.

L'action sur les nitrates alcalins est remarquable ; le *Bacille pyocyanique* est un organisme *dénitrifiant* énergique (3). Le nitrate alcalin est réduit en nitrite puis en azote élémentaire qui se dégage. Dans les cultures en bouillon, auxquelles on ajoute de petites quantités de nitrate de potasse, le dégagement de bulles gazeuses se constate vite ; ce dégagement peut même être tumultueux, faire mousser le liquide, projeter la bourre d'ouate qui ferme le tube. A ce point de vue, le microbe doit être considéré comme diminuant la fertilité d'un sol ou d'un engrais.

D'un autre côté, d'après Konvalewski (4), le *Bacille pyocyanique* pourrait assimiler une petite quantité d'azote libre.

Ce microbe produirait un ferment bactériolytique, *pyocyanase*, détruisant activement les Bacilles de la diphtérie, de la fièvre typhoïde et du choléra (5), et même ses propres éléments. On a essayé d'utiliser cette propriété en thérapeutique.

(1) Charrin et Desgrez, Production d'une substance mucinoïde par les Bactéries (*Soc. de Biol.*, 19 février 1898).

(2) Jakowski, Beiträge zur Lehre von den Bakterien des blauen Eiters (*Zeitschr. für Hygiene*, XV, 1893, p. 474).

(3) Weissemberg, *Arch. für Hygiene*, XXX, 1897, p. 274. — Wolff, Ueber Denitrifikation (*Hygienische Rundschau*, IX, 1899, n° 11).

(4) Konvalewski, Assimilation d'azote libre par les Bactéries (*Arch. russes de path.*, VI, 1898, p. 251).

(5) Emmerich et Loerr, Die Ursache der Künstlichen Immunität und die Heilung von Infektionskrankheiten (*Münch. med. Wochenschr.*, 1898, n° 40).

L'action sur les matières sucrées est peu connue. Le microbe doit les attaquer en produisant de l'acide carbonique et de l'alcool; cet effet se remarquerait même avec les cultures filtrées, dû probablement à une diastase dissoute (1).

Odeur. — Toutes ces cultures dégagent une odeur légèrement fécaloïde; les vieilles ont quelquefois une odeur douce, rappelant celle de la coumarine. Les cultures sur carotte émettent une odeur de fraises assez fugace, mais très nette, qui devient fécaloïde en vieillissant. L'odeur se retrouve sur les linges des pansements; elle a pu même faire deviner la présence de pus bleu avant l'ouverture du pansement.

Pigments. — Le *Bacille pyocyanique* peut produire plusieurs pigments: c'est d'abord une matière colorante bleue, la pyocyanine; ensuite un pigment fluorescent vert; puis secondairement un pigment rouge brun et un autre noir.

La *pyocyanine* s'extrait facilement des cultures et au mieux des bouillons où s'est développée la Bactérie, avant que les progrès de l'âge leur aient fait prendre la teinte brune.

Fordos l'extrayait des linges de pansement, qu'il traitait par de l'eau ammoniacale. Le liquide, agité avec du chloroforme, lui cède la pyocyanine que l'on peut obtenir cristallisée.

Gessard a perfectionné ce procédé et l'a appliqué aux cultures, ce qui permet d'obtenir des quantités beaucoup plus grandes du produit. Les bouillons de culture sont alcalinisés avec l'ammoniaque et agités avec du chloroforme. Ce dernier s'empare de la pyocyanine et se colore en un beau bleu de ciel foncé. Il a dissous en même temps des impuretés, surtout des matières grasses. Il est filtré et agité avec de l'eau acidulée avec de l'acide sulfurique ou de l'acide chlorhydrique. La pyocyanine passe dans l'eau acidulée à l'état de combinaison rouge. Le chloroforme retient les matières grasses et la matière colorante jaune que nous savons accompagner la pyocyanine dont elle provient, la *pyoxanthose*. La dissolution aqueuse rouge, décantée, est saturée par la potasse ou l'ammoniaque; elle passe au bleu. On filtre et on traite par le chloroforme qui entraîne la pyocyanine, qu'il abandonne par évaporation. C'est une masse confuse de petits cristaux, d'un bleu foncé, rappelant l'indigo. En reprenant par l'eau distillée et abandonnant à l'évaporation lente, on obtient de belles aiguilles isolées ou réunies en aigrettes ou en étoiles, des octaèdres ou des tables rhombiques.

La pyocyanine est soluble dans l'eau plus à chaud qu'à froid, l'alcool, le chloroforme, moins dans l'éther; elle a une saveur amère. Les acides la font passer au rouge et forment avec elle des composés cristallisables; on doit la considérer comme une base et la rapprocher peut-être des ptomaïnes. L'air et toute oxydation la font passer à l'état de pyoxanthose qui cristallise en petites aigrettes jaunes. La pyocyanine ne semble pas toxique, même à fortes doses.

En solution aqueuse ou chloroformique, la pyocyanine ne se conserve guère; elle s'altère vite et se décolore en passant par la teinte jaunâtre due à la formation de pyoxanthose. En solution aqueuse acide, acidulée avec l'acide sulfurique, elle donne un liquide rouge-rubis qui se conserve très longtemps sans altération, dans des flacons remplis et

(1) Lépine, Lyonnet et Martz, Sur le pouvoir glycolytique des cultures filtrées (*Lyon médical*, 1896, p. 575).

bien bouchés. On peut l'extraire, au moment du besoin, en neutralisant par l'ammoniaque et agitant avec du chloroforme.

Outre la pyocyanine, le microbe sécrète, comme l'a montré Gessard, un autre pigment verdâtre, qui communique aux milieux une belle fluorescence verte, tout à fait indépendante de la présence de pyocyanine.

La nature du *pigment fluorescent vert* est beaucoup moins connue. Il reste dans le liquide privé de pyocyanine par le traitement au chloroforme. On n'a constaté qu'un petit nombre de ses propriétés. Les acides, minéraux ou organiques, le font disparaître; les alcalis régénèrent la nuance, en l'exagérant même. Ce pigment a les mêmes propriétés que celui que sécrètent d'autres espèces bactériennes, entre autres les *Bacillus fluorescens liquefaciens* et *Bacillus fluorescens putridus*, très voisines du *Bacille pyocyanique* (1).

Le pigment rouge brunâtre signalé par Gessard provient probablement d'une transformation de la pyocyanine ou de la pyoxanthose (2).

Radais (3) a retiré d'une ulcération de la jambe un *Bacille pyocyanique* qui donne sur plusieurs milieux, sur gélatine et gélose, dans les bouillons, une coloration brune, qui fonce et passe au noir. D'après Gessard (4), cette coloration serait due à l'oxydation de la tyrosine du milieu par un ferment spécial, la tyrosinase, que peut sécréter le microbe.

La qualité et la quantité de la matière colorante produite sont en rapport intime avec la composition du milieu où vit le microbe. Il est même possible, en usant de certains artifices, de faire perdre au microbe toute sécrétion de matière colorante. Wasserzug y est arrivé en ajoutant aux milieux de culture de faibles doses d'antiseptiques; Gessard en faisant agir pendant cinq minutes une température de 57° sur un Bacille qui ne produit que la pyocyanine. On obtient ainsi ce que ce dernier auteur croit être des races du *Bacille pyocyanique*. Ces prétendues races sont au nombre de quatre, en comptant pour une l'état normal. Le Bacille normal, qui produit à la fois de la pyocyanine et du pigment fluorescent vert, est désigné par lui sous le nom de *race A*; la *race P* représente un microbe qui produit la pyocyanine seule; la *race F*, un qui ne donne que la fluorescence verte; la *race S*, enfin, ne produit ni pyocyanine ni fluorescence.

Le microbe normal, cultivé dans les solutions neutres ou faiblement alcalines de peptone à 2 p. 100, ne produit que de la pyocyanine; ses cultures ont une belle teinte bleue dont l'apparition est hâtée par l'addition au milieu de 5 p. 100 de glycérine.

Ce même microbe normal, au contraire, cultivé sur l'albumine d'œuf,

(1) Ruczicka, Experimentelle Studien über die Variabilität wichtiger Charaktere des *B. pyocyaneus* und des *B. fluorescens liquefaciens* (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 11).

(2) Boland, Ueber Pyocyanin, den blauen Farbstoff des *Bacillus pyocyaneus* (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 897).

(3) Radais, Sur une nouvelle race du Bacille pyocyanique (*Soc. de Biol.*, 24 juillet 1898).

(4) Gessard, Sur une propriété nouvelle du Bacille pyocyanique (*Soc. de Biol.*, 12 novembre 1898).

pure ou additionnée de glycérine, ne produit que la matière fluorescente verte.

En faisant une longue série de cultures sur l'albumine, puis en reportant le microbe dans le bouillon, Gessard a obtenu la race P, ayant perdu le pouvoir de produire la matière fluorescente verte, ne sécrétant plus que la pyocyanine. D'un autre côté, en soumettant le Bacille normal en culture dans le bouillon à une température de 57° maintenue cinq minutes, il obtient la race F, ne produisant que le pigment fluorescent vert. Toutefois, en faisant vivre les races F et S, qui ne produisent plus de pyocyanine, dans des conditions déterminées, la fonction pyocyanique reparaît. En les cultivant sur un milieu que Gessard dénomme *gélose-peptone*, la matière colorante bleue reparaît, ne différant en rien de celle que l'on obtient avec les races A et P. Il prépare ce milieu de la façon suivante : De la gélose finement hachée est introduite à la dose de 25 centigrammes dans un tube à essai ; on ajoute 5 centimètres cubes de solution de peptone neutre à 2 p. 100 et cinq gouttes de glycérine ; on maintient les tubes quelque temps dans l'eau bouillante pour dégager l'air retenu par la gélose, puis on porte à l'autoclave à 120° et on laisse refroidir en inclinant. D'après Bonjean (1), le meilleur moyen de faire revenir la fonction pyocyanique serait l'inoculation intrapéritonéale au cobaye et la mise en culture du sang du cœur aussitôt après la mort. C'est là le lieu d'élection du *Bacille pyocyanique* qui a repris ses fonctions normales par passage dans un organisme animal très sensible à son action.

Les variétés α et β de Ernst (2) et la variété γ de Freudenreich (3) ne diffèrent non plus que par quelques caractères de cultures et par des variations légères de la fonction pigmentaire ; de même la variété de Schürmayer (4). La variété noire de Radais, ne produisant pas de pyocyanine au début, s'est mise à en faire après un certain temps de culture en bouillon peptonisé.

La matière colorante ne se produit pas sans air, non plus que dans l'air confiné ou l'oxygène pur. Des doses calculées d'antiseptiques peuvent empêcher la production du pigment tout en laissant la végétation s'accomplir. D'après Charrin et Roger (5), 3 centigrammes de sublimé par litre empêchent la formation de pyocyanine ; la Bactérie n'est tuée que par 4 centigrammes.

Il ressort de ces intéressantes expériences, qu'il est possible que, dans la nature, le *Bacille pyocyanique* rencontre les diverses conditions mises en œuvre pour obtenir ces races et qu'il ne faut pas, pour le reconnaître et affirmer sa présence, se baser sur la seule réaction de la pyocyanine.

Produits solubles. — Ils paraissent être nombreux et complexes. Ils sont surtout contenus dans les bouillons de cultures filtrés sur bougie ; c'est le liquide connu sous le nom de *toxine pyocyanique*. Arnaud

(1) Bonjean, Le Bacille pyocyanique dans les eaux d'alimentation (*Ann. d'hyg. publique*, juillet 1899, p. 28).
(2) Ernst, *Zeitschr. für Hygiene*, II, 1887, p. 369.
(3) Freudenreich, *Ann. de micr.*, 1893, p. 183.
(4) Schurmayer, *Zeitschr. für Hygiene*, XX, 1895, p. 281.
(5) Charrin et Roger, Action de certaines substances sur les produits de sécrétion des microbes (*Soc. de Biol.*, 29 octobre 1887).

et Charrin (1) les séparent en trois groupes : produits volatils, produits insolubles dans l'alcool, produits solubles dans l'alcool. Leur nature est encore très peu connue ; seule leur action physiologique a été étudiée.

Les produits du premier groupe, séparables par distillation, agissent sur les vaso-moteurs, paralysent le centre dilatateur, resserrent les vaisseaux, empêchent par conséquent la diapédèse ; toutefois, l'action est passagère.

Les produits du second groupe, ne dialysant pas, déterminent de la diarrhée, de la fièvre, de l'albuminurie, des hémorragies ; si l'animal ne succombe pas vite à leur action, il devient souvent cachectique. Certains des produits de cette catégorie sont toxiques, d'autres vaccinants ; l'animal guéri est devenu réfractaire.

Ceux du troisième groupe, solubles dans l'alcool et dialysant, ont une action élective sur le système nerveux ; ils déterminent des convulsions. Si l'animal résiste à leur action, il se rétablit complètement et n'est pas vacciné.

Inoculation expérimentale.

Les cultures sont pathogènes pour certains animaux. Le *lapin*, le *cobaye*, le *rat*, la *souris* sont surtout réceptifs. Le *pigeon* présente une tendance au sommeil, de la diminution de l'appétit, du désordre dans l'arrangement des plumes. La *grenouille* est réellement impressionnée ; elle demeure immobile et maigrit.

Chez le *cobaye*, en inoculant une petite quantité de culture sous la peau, il se développe une tuméfaction à laquelle fait suite une ulcération rougeâtre, plus ou moins desséchée, en quelque sorte gommeuse ; si la quantité de culture dépasse 1 centimètre cube, ou si le microbe est très virulent, la maladie se généralise et la mort peut survenir. En inoculation intrapéritonéale, la mort survient rapidement avec des doses moindres.

Inoculation du lapin. — Chez le lapin, même par inoculation sous-cutanée, ce sont les accidents généraux qui dominent. Charrin (2) a surtout étudié l'action du *Bacille du pus bleu* sur cet animal et fait de la maladie expérimentale que ce microbe occasionne, la *maladie pyocyanique*, une véritable maladie d'étude, féconde en renseignements du plus haut intérêt.

Suivant la qualité et la quantité de virus que l'on introduit dans l'organisme, suivant aussi l'état de l'animal, on peut observer diverses formes de la maladie pyocyanique. L'affection peut évoluer d'une façon suraiguë, en moins de vingt-quatre heures ; d'une façon aiguë, en deux ou quatre jours ; enfin d'une façon chronique, la durée pouvant atteindre plusieurs mois.

Dans les formes rapides, les principaux symptômes sont l'abattement,

(1) Arnaud et Charrin, Recherches chimiques et physiologiques sur les sécrétions microbiennes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 19 mai 1891).

(2) Charrin, Paralysie infectieuse expérimentale (*Soc. de Biol.*, 28 avril 1887). — *Id.*, Sur la résistance de l'organisme à l'action des microbes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 17 octobre 1887). — Babinsky et Charrin, Paralysie pyocyanique : étude clinique et anatomique (*Soc. de Biol.*, 10 mars 1888). — Charrin, La maladie pyocyanique, 1889.

la perte d'appétit, la somnolence, et souvent, à la fin, des convulsions. On observe, en outre, de la fièvre, de la diarrhée, de l'albuminurie. L'animal maigrit, tombe dans un état cachectique. Il se produit enfin, dans certains cas, des troubles moteurs paralytiques d'un type tout à fait caractéristique.

Ces paralysies ne surviennent pas aussitôt après l'inoculation; il existe une période d'incubation assez longue, de vingt-cinq jours à deux mois. Les membres postérieurs sont les premiers atteints, les deux ensemble, ou successivement, ou un seul. C'est une paralysie de nature spasmodique, disparaissant la plupart du temps par la chloroformisation. Les muscles ne sont pas atrophiés. La sensibilité à la piqûre est émoussée, mais jamais abolie. D'ordinaire, la paralysie se généralise et la mort survient. Dans de rares exceptions, elle peut disparaître et quelquefois laisser à sa suite des rétractions fibro-tendineuses. A l'autopsie, on ne trouve de lésions ni dans les muscles, ni dans les nerfs, ni dans les centres nerveux. L'affection se diagnostique facilement, outre son aspect clinique, en ensemençant du bouillon avec un peu de sang, d'urine, ou de matières diarrhéiques; en vingt-quatre ou quarante-huit heures, on peut observer les réactions de la pyocyanine.

En inoculant au lapin, en quantité suffisante, du bouillon de culture stérilisé par la chaleur ou par la filtration sur porcelaine, on obtient la plupart des symptômes que produit l'inoculation du Bacille, en particulier la diarrhée, l'albuminurie, la mort, et surtout les paralysies si caractéristiques. C'est donc grâce à ses produits solubles que cette Bactérie agit. Bouchard (1) a même pu obtenir ces mêmes symptômes en injectant l'urine d'individus malades. On n'est pas encore fixé sur la nature de ses produits toxiques.

Nous avons vu précédemment (p. 124) quels étaient, d'après Charrin et Gley, les curieux résultats de l'influence de ces produits toxiques sur la progéniture des animaux qui étaient soumis à leur action.

En inoculant de faibles doses, moins de 1 centimètre cube, de cultures virulentes sous la peau de lapins, on obtient une sorte de maladie pyocyanique ébauchée, que l'animal supporte très bien. Si l'on répète cinq ou six fois et à trois ou quatre jours d'intervalle ces inoculations sous-cutanées, on rend les lapins réfractaires même aux inoculations intraveineuses; ils sont *vaccinés*. Les cultures stérilisées peuvent même produire cette immunité; le *Bacille pyocyanique* fabrique donc des substances vaccinantes à son égard.

Habitat et rôle étiologique.

Le *Bacillus pyocyaneus* et conséquemment la pyocyanine ne sont pas spéciaux au pus bleu. Schwartzenbach (2) a isolé de la pyocyanine de la sueur bleue d'un tétanique, et Andouard (3) de la sueur bleue d'un albuminurique. D'autres sécrétions, teintes en bleu d'une façon anor-

(1) Bouchard, Cours de pathologie générale, 1888.
(2) Schwartzenbach, *Schweiz. Zeit. für Heilk.*, 1863.
(3) Andouard, Sueur et sérosité bleues (*Journ. de méd. de l'Ouest*, 1879).

male, doivent sans doute leur coloration à la même cause. Frick (1) signale la présence du même microbe dans certains crachats verts.

Dans le cas de suppuration bleue, le phénomène ne semble avoir d'influence ni sur l'état local des plaies, ni sur l'état général du malade. D'anciens chirurgiens, au contraire, le considéraient comme d'un pronostic favorable. La coloration bleue des pansements, fréquente autrefois, devient rare aujourd'hui depuis l'emploi des méthodes antiseptiques.

Jusqu'à ces derniers temps, le *Bacille du pus bleu* ne constituait, à proprement parler, qu'une curiosité dans la pathologie humaine. Les observations d'Ehlers et de Neumann, rapportées par Charrin (2), d'Œttinger (3), ont d'abord montré que ce même organisme pouvait occasionner chez l'homme une maladie générale se rapprochant, dans de certaines limites, de la maladie pyocyanique déterminée expérimentalement chez le lapin. Les symptômes principaux de cette infection sont la fièvre, la diarrhée, l'albuminurie, des hémorragies, une éruption bulleuse cutanée ; le sang, les matières diarrhéiques, la sérosité de phlyctènes contenaient en abondance le *Bacille du pus bleu*, facile à caractériser à l'aide de la réaction de la pyocyanine.

Depuis, de nombreuses observations démontrent la grande fréquence de l'infection pyocyanique, chez l'homme. On se trouve conduit à attribuer, en pathologie, au *Bacille pyocyanique* un rôle beaucoup plus important ; à tel point qu'on ne peut guère le comparer sous ce rapport qu'au *Colibacille* lui-même, qui du reste a eu la même destinée, a été considéré longtemps comme un simple saprophyte.

Les manifestations cliniques occasionnées par le *Bacille du pus bleu* sont des plus variées ; la maladie pyocyanique se présente surtout sous deux types, le type septicémique ou le type cutané.

C'est la forme septicémique qui est la plus commune. C'est tantôt une véritable septicémie avec fièvre, albuminurie, hémorragies, endocardite (4), tous les symptômes habituels d'une infection générale. Tantôt, au contraire, ce sont des manifestations plus localisées qui peuvent se produire sur des organes ou appareils très divers. Les plus communes de toutes sont celles qui portent sur le tube digestif. Un grand nombre d'affections intestinales, diarrhées, entérites, dysenteries, gastrites, gastro-entérites, etc., paraissent être sous la dépendance de ce microbe, en particulier bien des entérites infectieuses atteignant les jeunes enfants (5).

(1) Frick, Bacteriolog. Mitth. über das grüne Sputum und über die grünen Farbstoff producirenden Bacillus (*Virchow's Arch.*, CXVI, p. 266).

(2) Charrin, Maladie pyocyanique chez l'homme (*Soc. de Biol.*, 26 juillet 1890).

(3) Œttinger, Un cas de maladie pyocyanique chez l'homme (*Sem. méd.*, 22 octobre 1890).

(4) Blum, Ein Fall von Pyocyaneus-Septikämie mit komplizierender Pyocyaneus-Endocarditis im Kindesalter (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 113).

(5) Neumann, Weiterer Beitrag zur Kenntniss der hämorrhagischen Diathese Neugeborener (*Arch. für Kinderheilk.*, XIII, 1891). — Calmette, *Arch. de méd. col.*, 1893. — Thiercelin et Lesage, *Revue mensuelle des mal. de l'enfance*, 1894. — Kossel, Zur Frage der Pathogenität des *Bacillus pyocyaneus* für den Menschen (*Zeitschr. für Hygiene*, XVI, 1894, p. 368). — Legars, La maladie pyocyanique chez l'homme. Thèse de Paris, 1895. — Lartigau, The *Bacillus pyocyaneus* as a pathogenic factor in human Pathology, with the Report of three cases (*The Philadelphia med. Journ.*, 1898). — *Id.*, A contribution to the study of the pathogenesis of the *Bacillus pyocyaneus* with special reference to its relation to an epidemic of dysentery (*The Journ. of exper. Med.*, III, 1898, nº 6). — Escherich, Pyocyaneusinfektion bei Saüglingen (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 117).

Les manifestations pulmonaires, broncho-pneumonie, gangrène pulmonaire (1), sont encore assez fréquentes. Le Noir (2) le regarde comme un des agents pouvant produire l'infection urinaire. Martha (3) le trouve dans le pus d'otites moyennes; Maggiora et Gradenigo (4) dans le pus de furoncles du conduit auditif externe. Blumer (5) le rencontre seul dans une angine aiguë simulant cliniquement la diphtérie. Monnier (6) le donne comme pouvant occasionner des méningites.

Les formes cutanées sont plus rares chez l'homme ; ce sont des éruptions bulleuses, semblables à celles que l'on peut observer chez l'animal dans l'infection pyocyanique expérimentale, de l'ecthyma par exemple (7) ; ou des ulcérations multiples, comme dans le cas de Burot (8).

Enfin, le *Bacille pyocyanique* vient souvent compliquer des processus dus à d'autres microbes, les suppurations principalement ; Kuhnau (9) le signale dans l'influenza, Vincent (10) dans la fièvre typhoïde, en véritable association microbienne imprimant un cachet spécial à la marche de l'affection.

Dans les cas d'infection générale, le Bacille se trouve dans le sang et les sucs d'organes ; dans les formes localisées, il peut se rencontrer uniquement dans les lésions spéciales. Il est disséminé au dehors par des produits pathologiques divers, des excrétions ou sécrétions, les crachats, l'urine (11), d'autres sécrétions (12), les matières fécales surtout, parce que les déterminations intestinales sont des plus fréquentes.

Il se rencontre fréquemment dans le milieu extérieur, vivant alors en saprophyte. Et il y est certainement plus commun qu'on ne le croit, parce que pour sa détermination on se base surtout sur la constatation de la réaction de la pyocyanine qui manque alors souvent et qui demande, pour reparaître et se manifester nettement, des conditions spéciales.

Chez l'homme, à l'état normal, il est commun surtout dans le contenu intestinal ; il y a longtemps qu'on avait signalé la fréquence de la suppuration bleue dans les lésions voisines des orifices intestinaux, celles

(1) Hirschler et Terray, *Orvosi hetilap*, 1889, n° 50.

(2) Le Noir, Infection urinaire mixte. Présence du Bacille pyocyanique dans l'urine de l'homme (*La Médecine moderne*, 1896, p. 56).

(3) Martha, Note sur deux cas d'otite moyenne purulente contenant le Bacille pyocyanique à l'état de pureté (*Arch. de méd. expér.*, IV, 1892, p. 130).

(4) Maggiora et Gradenigo, Observations bactériologiques sur les furoncles du conduit auditif externe (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V, 1891, p. 651).

(5) Blumer, *John's Hopkins Hospital Bulletin*, 1895.

(6) *In* Thèse de Legars, Paris, 1895.

(7) Hitschmann et Kreibig, Ein weiterer Beitrag zur Aetiologie des Ecthyma gangrænosum (*Arch. für Dermat.*, L, 1900, p. 71).

(8) Burot, Un cas de maladie pyocyanique à forme cutanée (*Soc. de Biol.*, 4 juin 1898).

(9) Kuhnau, Ueber die Resultate und die Leitungsfähigkeit der bakteriol. Bluntersuch. im Dienste der klin. Diagnostik (*Zeitschr. für Hygiene*, XXV, 1897, p. 492).

(10) Vincent, *Soc. méd. des hôp.*, 6 mai 1898.

(11) Klecki, Ueber die Ausscheidung von Bakterien durch die Niere und die Beeinflussung dieses Prozesses durch die Diurese (*Arch. für exper. Path.*, XXXIX, 1897, p. 173).

(12) Biedl et Kraus, Ueber die Ausscheidung der Mikroorganismen durch drüsige Organe (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVI, 1897, p. 353). — Weleminsky, Ausscheidung von Mikroorganismen durch die thätige Milchdrüse (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 657).

de la région anale ou des régions voisines principalement. Musham (1) l'a rencontré vivant en saprophyte sur la peau du creux de l'aisselle, des plis anaux et inguinaux, dans 50 p. 100 des individus examinés.

Il est également très répandu dans la nature ; si on ne le rencontre pas, c'est pour la raison qui vient d'être citée. Il paraît devoir être regardé comme un microbe de l'intestin et des matières fécales d'animaux très divers. C'est de là surtout certainement qu'il se répand dans le milieu extérieur.

Il est fréquent dans la terre et dans les poussières superficielles qui le mettent en suspension dans l'air. L'air des laboratoires où on le manipule donne souvent de ses colonies comme impuretés sur les cultures.

Les eaux en renferment très souvent, surtout les eaux polluées (2). Sa présence paraît être d'un mauvais indice ; il provient sans doute presque toujours d'une contamination fécaloïde. Les cultures en bouillons phéniqués, si usitées pour la recherche du *Colibacille* et du *Bacille typhique*, permettent de l'isoler facilement (p. 724).

Artaud (3) l'a signalé dans un œuf de poule, venant certainement de l'oviducte et alors de l'intestin par le cloaque.

Charrin (4) a démontré qu'il pouvait être considéré comme pathogène pour les plantes ; en l'inoculant aux feuilles d'une plante grasse, le *Pachyphyton bracteorum*, il a pu obtenir des altérations marquées des tissus. Russell (5) le donne aussi comme pouvant vivre en parasite dans les tissus de diverses plantes.

Recherche et diagnostic.

Lorsqu'on peut constater la présence de la pyocyanine, et la réaction est simple et facile, le diagnostic se fait aisément et avec certitude. Lorsque le microbe ne forme pas de pyocyanine, la chose devient un problème difficile. Il faut se baser sur les caractères de forme des éléments, l'aspect des cultures, leur odeur, l'action physiologique, et comme ici il n'existe rien de bien spécial, on doit reconnaître qu'il est délicat d'émettre une opinion bien assise.

Souvent la fonction pyocyanique peut reparaître par des séries de cultures en milieux favorables, le bouillon peptonisé par exemple ; mais alors la détermination peut demander beaucoup de temps.

Toutefois, la virulence peut donner de bonnes indications. Le mieux à faire, comme l'ont montré Pouchet et Bonjean, c'est de recourir à l'inoculation intrapéritonéale du cobaye. L'animal est très sensible au microbe par cette voie ; le *Bacille pyocyanique* s'isole facilement du sang du cœur qui est véritablement ici son lieu d'élection ; de plus, le passage par l'animal lui a fait récupérer sa fonction pyocyanique qui peut alors être constatée.

(1) Musham, *in* Schimmelbusch, Ueber grünen Eiter und die pathogene Bedeutung des *Bacillus pyocyaneus* (*Samml. klin. Vortr. von Volkmann*, série III, Heft 2, p. 303).

(2) Bonjean, Le Bacille pyocyanique dans les eaux d'alimentation (*Ann. d'hyg. publ.*, juillet 1899, p. 28).

(3) Artaud, Le Bacille pyocyanique dans un œuf de poule (*Soc. de Biol.*, 1893, p. 78).

(4) Charrin, Le Bacille pyocyanique chez les végétaux (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CXVI, 1893, p. 1082).

(5) Russell, Bacteria in their Relations to vegetable Tissue. Dissertation de John's Hopkins University, Baltimore, 1892.

Séro-diagnostic. — Charrin et Roger (1) ont remarqué, dès 1889, qu'en ensemençant du *Bacille pyocyanique* dans du sérum de lapin immunisé, le liquide restait clair; les microbes pullulaient, mais restaient agglutinés en grumeaux se déposant au fond du tube; tandis que dans le sérum normal il se produisait un trouble uniforme et pas d'agglutination.

BACILLUS SEPTICUS PUTIDUS Roger.

Roger (2) a isolé ce microbe pathogène du liquide céphalo-rachidien et du foie d'un homme, atteint de choléra, ayant succombé en présentant des symptômes méningitiques. L'autopsie n'avait révélé aucune lésion viscérale, mais seulement une légère augmentation de liquide céphalo-rachidien qui distendait les méninges et avait amené une légère dilatation des ventricules cérébraux. L'ensemencement donna des cultures pures d'une seule et même espèce.

Morphologie. — Caractères microscopiques. — C'est un petit Bacille ovalaire, à extrémités arrondies, mesurant de 0,6 μ à 1 μ de long, présentant souvent un léger étranglement dans sa partie médiane. Il est très mobile. Sa forme est très constante, même dans les vieilles cultures.

Coloration. — Il se colore assez bien aux couleurs d'aniline, surtout au violet de gentiane, et se *décolore* par la méthode de Gram.

Cultures. — Il se développe très bien sur les milieux habituels. Toutes les cultures, sauf celles faites dans le lait, en tubes, exhalent une odeur de putréfaction fort désagréable, surtout les cultures sur pomme de terre. Il paraît être anaérobie facultatif, mais végète beaucoup plus abondamment en présence d'oxygène.

Cultures sur plaques de gélatine. — Il forme, au bout de vingt-quatre à trente-six heures vers 18°, de petites colonies circulaires, à bords nets ou légèrement déchiquetés, à surface granuleuse. La gélatine se *liquéfie* rapidement; mais les colonies conservent longtemps leurs caractères dans le liquide formé, puis, avec le temps, perdent leur forme circulaire et poussent de nombreux prolongements qui donnent au milieu de culture un aspect floconneux.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre*, il se produit, le long de la piqûre, un canal de liquéfaction, renfermant des flocons blanchâtres et se terminant à la surface libre par une large capsule qui augmente progressivement et en deux ou trois jours atteint les bords du tube. A partir de ce moment, la liquéfaction s'opère de haut en bas et de plus en plus lentement.

Cultures sur gélose. — Sur la strie, il se forme un sillon épais, blanc, crémeux, et, sur le reste de la surface, des îlots assez larges, demi-transparents. Sur gélose glycérinée, la culture est moins abondante.

Cultures sur sérum coagulé. — La culture s'y fait en ramollissant d'abord le milieu, puis le liquéfiant en six à sept jours.

(1) Charrin et Roger, Note sur le développement des microbes pathogènes dans le sérum des animaux vaccinés (*Soc. de Biol.*, 1889, p. 667).

(2) Roger, Recherches bactériologiques sur un cas de septicémie (*Soc. de Biol.*, 29 octobre 1892). — *Id.*, Action du *Bacillus septicus putidus* sur le lait (*Ibid.*, 8 juillet 1893).

Cultures sur pomme de terre. — Au bout de vingt-quatre heures, apparaît une tache gris jaunâtre, terne, sèche, fortement adhérente au milieu. Cette tache s'étend peu, mais le reste de la pomme de terre prend une teinte brunâtre ou ardoisée.

Cultures dans le bouillon. — Le liquide se trouble d'une façon uniforme et prend une coloration gris jaunâtre : quelquefois, on trouve de légers flocons au fond du liquide ; il ne se produit pas de voile. La culture est moins abondante dans le bouillon glycériné.

Les bouillons additionnés de glucose ou de saccharose deviennent acides au bout de deux jours. Le lactose n'est pas attaqué ; le bouillon contenant ce sucre prend une réaction alcaline de plus en plus marquée, comme le bouillon pur ou la gélatine.

Cultures dans le lait. — Dans un *tube*, où la surface libre est étroite et où l'air n'arrive pas en abondance, le lait est coagulé en vingt-quatre ou quarante-huit heures en une masse solide, présentant quelques fissures ; les jours suivants, le caillot se rétracte et laisse sourdre un sérum clair, incolore et inodore. Le milieu reste neutre ou même devient légèrement alcalin ; la coagulation est due à la production d'un ferment soluble de la nature de la présure.

Dans un *ballon à fond plat*, où le lait est exposé à l'air sur une large surface, le liquide ne se coagule pas, mais se transforme en un liquide brun-chocolat, visqueux, d'une odeur très fétide. La caséine est transformée très vite ; l'acide acétique ne donne plus de précipité dès le deuxième jour, parfois même après vingt-quatre heures.

Produits formés dans les cultures. — Outre la triméthylamine et les acides formés aux dépens de certains sucres, les cultures renferment des produits solubles toxiques qui ont une action très marquée sur le cœur des grenouilles, en provoquent le ralentissement et l'arrêt en diastole, et tuent le lapin avec paralysies, convulsions, asphyxie.

Inoculation expérimentale. — Le lapin succombe en deux ou trois jours à la suite d'une inoculation intraveineuse de 1 centimètre cube de bouillon de culture. L'injection sous-cutanée ou intrapéritonéale d'une même dose le tue en cinq à douze jours. Dans le cas d'une mort rapide, en deux ou trois jours, on trouve le microbe dans les viscères et dans le sang ; lorsque la mort survient en cinq ou sept jours, on rencontre le microbe dans les viscères, mais pas dans le sang ; quand elle arrive après le huitième jour, on ne retrouve plus le microbe dans l'organisme. On en peut conclure que la toxine joue un grand rôle dans l'affection.

BACILLE DU RHUMATISME ARTICULAIRE AIGU.

Le rhumatisme articulaire aigu a été depuis longtemps considéré comme une maladie infectieuse. Souvent, en effet, il présente la marche et les symptômes d'une véritable septicémie, tout particulièrement la production d'endocardite, de péricardite, de pleurésie, de néphrite, d'éruptions cutanées (1).

Pour certains, cette septicémie spéciale serait sous la dépendance

(1) Louis de Saint-Germain, Contribution à l'étude de la pathogénie du rhumatisme articulaire aigu. Thèse de Paris, 1893

d'espèces microbiennes diverses, tout particulièrement d'espèces de la suppuration et surtout le *Micrococcus pyogenes albus* que Bouchard et Charrin (1) ont rencontré depuis longtemps dans le sang des rhumatisants. Pour d'autres, elle serait due à une ou plusieurs espèces réellement spécifiques.

Le microbe qui paraît être de beaucoup le plus important et auquel il semble qu'on puisse attribuer le nom de *Bacille du rhumatisme articulaire aigu* est celui qu'a isolé Achalme (2) dès 1891, et que Lucatello (3), Thiroloix (4), Carrière (5), Savtchenko (6), Pic et Lesieur (7) ont retrouvé après lui, dans les mêmes conditions.

Il se rencontre dans le sang et les épanchements des diverses complications du rhumatisme. On en obtient aisément des cultures en l'absence d'air; c'est un anaérobie exclusif.

Dans les liquides humains où il se trouve et dans bien des milieux de cultures, les éléments sont des bâtonnets de 1 μ de large sur environ 6 μ de longueur, très semblables au *Bacille du charbon*, mais à extrémités plus arrondies. Dans les milieux renfermant des sucres, la longueur est moindre, 2 à 4 μ; dans l'urine et la gélatine, il devient au contraire presque filamenteux. Dans les cultures, on trouve souvent des formes d'involution, irrégulièrement renflées ou contournées.

Dans les cultures jeunes, les bâtonnets ont des mouvements bien nets quoique lents. Dans les vieilles cultures, la mobilité est presque nulle. Les mouvements disparaissent rapidement sous l'influence de l'air.

Le Bacille forme des spores, mais très difficilement dans les cultures. D'après Achalme, pour l'observer, il faut mettre à l'étuve, dans des pipettes bien pleines et scellées, des sérosités de lapin ou de cobaye tués par inoculation sous-cutanée, ou mieux du liquide amniotique d'une femelle tuée par inoculation. En trois ou quatre jours, il s'est formé à une extrémité de beaucoup de bâtonnets une grosse spore ovoïde, réfringente, plus large qu'eux; l'élément sporulé ressemble à une courte épingle à grosse tête.

Ce Bacille se colore bien aux couleurs d'aniline et *reste coloré* par la méthode de Gram. En colorant au violet de méthyle, quelques éléments présentent une petite auréole. C'est le bleu de méthylène en solution faiblement alcaline qui paraît donner les meilleurs résultats pour les préparations de sang, de sérosités ou de tissus.

Les cultures s'obtiennent facilement en partant du sang ou des sérosités pathologiques. Elles ne se font qu'en l'absence complète d'oxygène. La température de 30° à 38° est très favorable; la végétation s'arrête à 43° et ne se fait que très difficilement au-dessous de 25 degrés.

Sur *gélatine*, le développement ne se fait pas ou très peu seulement, à cause de la basse température à employer. Achalme a obtenu à 22°,

(1) Bouchard et Charrin, *Assoc. franç. pour l'av. des sc.*, 1889.

(2) Achalme, *Soc. de Biol.*, 25 juillet 1891. — *Id.*, Recherches bactériologiques sur le rhumatisme articulaire aigu (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 845).

(3) Lucatello, *Ve Congrès de la Soc. ital. de méd. int.*, 1892.

(4) Thiroloix, *Soc. de Biol.*, 19 mars, 9 octobre et 6 novembre 1897.

(5) Carrière, Rhumatisme articulaire subaigu (*Soc. de Biol.*, 1898, p. 736).

(6) Savtchenko, Sur le rhumatisme aigu et la Bactérie d'Achalme (*Arch. russes de path.*, V, 1898, p. 613).

(7) Pic et Lesieur, Contribution à la bactériologie du rhumatisme articulaire aigu (*Journ. de phys.*, I, 1899, p. 1007).

avec un ensemencement très abondant, une petite culture et une liquéfaction très lente de la gelée.

Sur *gélose*, surtout glycérinée, en strie, il se forme une très mince culture blanche ; en piqûre, la gelée se casse par suite de production de gaz.

Sur *sérum coagulé*, sur *pomme de terre*, sur *carotte*, il ne se produit presque rien.

Le *bouillon* donne facilement de belles cultures. Après douze heures, il apparaît déjà des bulles de gaz, puis le liquide se trouble uniformément et montre des ondes soyeuses par agitation. Il se dépose un sédiment blanchâtre et le liquide s'éclaircit peu à peu. L'addition de sucres donne des cultures plus vigoureuses.

Le *lait* est un excellent milieu de culture. Après douze à quinze heures à 37°, il se coagule en masse, le caillot se creuse d'alvéoles dus à la production de bulles de gaz ; il se fait un fort dégagement gazeux formé d'hydrogène et d'acide carbonique en volumes sensiblement égaux. La culture a une odeur intense de fromage.

Dans l'*urine stérilisée*, il se fait une curieuse précipitation d'urates.

Les cultures ne donnent jamais la réaction de l'indol.

Elles ont une réaction acide due à la production d'acide lactique et d'acide butyrique.

Les cobayes, les lapins, les souris, les grenouilles sont réceptifs.

Le cobaye est l'animal de choix. Un demi-centimètre cube d'une culture en bouillon âgée de vingt-quatre heures le tue en vingt à trente-six heures. Il se forme au lieu d'inoculation un large œdème sanguinolent, crépitant. Le liquide de l'œdème renferme de nombreux Bacilles ; le sang du cœur, noirâtre, en partie coagulé, en renferme beaucoup moins.

Chez le lapin, la réaction locale est moins forte ; on obtient plus facilement de la péricardite ou de la pleurésie.

Le Bacille d'Achalme est loin de pouvoir se retrouver dans tous les cas de rhumatisme articulaire aigu. Pour Triboulet et Coyon (1), on ne le rencontrerait que dans les cas graves, compliqués. Dans les formes typiques, on rencontrerait presque toujours un Diplocoque spécial, à éléments oblongs ou ovoïdes, mesurant de 0,5 à 1 μ sur 0,5 μ, se colorant facilement et restant coloré par la méthode de Gram.

Ce microbe se cultive à l'air et sans air.

Il se développe sur gélatine, en donnant de petites colonies blanches ressemblant à du grésil.

Il ne pousse pas ou très peu sur gélose ordinaire et sur gélose glycérinée ; bien au contraire sur gélose peptonisée lactosée, ou sur gélose additionnée de produits contenant de l'hémoglobine.

Il se développe très peu dans le bouillon et un peu dans le lait qu'il coagule.

Les cultures ont été sans effet sur les animaux d'expérience, sauf une fois où l'injection intraveineuse de 12 centimètres cubes de bouillon de culture a déterminé chez un lapin des lésions cardiaques ayant amené la mort. Il est donc difficile d'être bien affirmatif.

Ce même microbe aurait été rencontré dans le sang de malades atteints de chorée rhumatismale (2).

(1) Triboulet et Coyon, Bactériologie du rhumatisme articulaire aigu (*Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898).

(2) Appert, Bactériologie de la chorée rhumatismale (*Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898).

BACILLES DES URINES PATHOLOGIQUES.

Dans un grand nombre de maladies, l'urine peut renfermer des Bactéries pathogènes. C'est d'abord, nous le savons déjà, dans des maladies infectieuses générales où l'on peut observer, comme complication, des lésions rénales, pyémie, septicémie, fièvre typhoïde, tuberculose, scarlatine, etc. (Voy. p. 108). D'autres fois ces espèces, provenant de l'extérieur par la voie du canal de l'urètre, envahissent la vessie et même le rein, déterminant une inflammation de cet organe désignée sous le nom de *néphrite ascendante*, à cause de la marche de l'infection qui l'occasionne. Ces microbes pathogènes semblent assez nombreux ; un petit nombre, toutefois, sont suffisamment connus.

Clado (1) a étudié, le premier, une de ces espèces intéressantes, qu'il désigne sous le nom de *Bactérie septique de la vessie.*

Il l'a isolée d'urines d'individus atteints de cystite et de pyélonéphrite, où elle se trouvait en compagnie d'un grand nombre d'autres microbes de formes diverses. Elle présente des caractères bien spéciaux qui permettent de la reconnaître facilement.

Les éléments sont des bâtonnets mobiles de 1,6 à 2 μ de long sur 0,5 μ de large, la plupart du temps isolés ; ils pourraient donner des spores ovoïdes. Ils se colorent très bien aux méthodes ordinaires et restent colorés par la méthode de Gram.

On en obtient facilement des cultures sur les milieux habituels.

Sur plaques de gélatine, les colonies ont un aspect caractéristique. Vers le troisième ou le quatrième jour, on les voit à l'œil nu sous forme de petits points. Au microscope, à un faible grossissement, elles ont une forme ronde ou ovale et des bords bien nets. Le milieu, d'un gris sombre plus foncé, forme une sorte de noyau central ; la périphérie est plus claire, d'un gris jaunâtre. Parfois ces colonies présentent une série de cercles concentriques. Elles s'accroissent très lentement, et, quel que soit leur âge, ne dépassent jamais la grosseur d'une tête d'épingle.

En inoculant par piqûre un tube de gélatine que l'on place à 18° ou 20°, on aperçoit le lendemain même de l'ensemencement une légère traînée opaline et blanchâtre le long de la piqûre. Vers le troisième jour, il apparaît sur les bords des dentelures très fines. Mais c'est vers le sixième ou le septième jour que la culture prend un aspect vraiment caractéristique. A la partie supérieure, il existe une bande blanche, de chaque côté de laquelle se trouve une série de colonies séparées les unes des autres, provenant des dentelures signalées précédemment ; rarement on observe trois de ces séries. Ces petites colonies ont une forme nettement lenticulaire ; les inférieures sont plus grosses que celles qui sont plus proches de la surface. A la surface même, le microbe se développe avec moins de vigueur ; il y forme une mince couche opaline, irrégulière, qui s'étale irrégulièrement autour de la piqûre et peut même arriver jusqu'aux bords du tube. La gélatine n'est jamais liquéfiée.

Sur gélose, il se développe une mince pellicule opaline, sur laquelle

(1) Clado, Étude sur une Bactérie septique de la vessie. Thèse de Paris, 1887.

apparaissent de petites colonies circulaires, luisantes, d'un blanc de lait. La gélatine et la gélose, parfaitement neutres, présentent rapidement une réaction alcaline.

Ce microbe se développe avec rapidité dans le bouillon vers 30°. Le lendemain de l'ensemencement, le liquide se trouble déjà. Dans les vieilles cultures, le liquide reste trouble; il s'est déposé un léger sédiment. Le bouillon neutre devient rapidement alcalin.

Sur les pommes de terre, on voit, le lendemain même de l'ensemencement, aux points d'inoculation, une tache de couleur chamois, qui passe vite au marron; la culture ne proémine pas; sa surface est sèche plutôt que luisante.

L'inoculation de produits de culture, faite dans le tissu cellulaire sous-cutané ou dans le sang de souris, de lapins, de cobayes, tue rapidement ces animaux avec des symptômes de septicémie; on retrouve partout des Bactéries spéciales. Le microbe existe toujours dans la vessie; l'urine en renferme toujours. Les rats paraissent être réfractaires.

C'est cette même espèce qui a été rencontrée par Albarran et Hallé (1) dans l'urine de malades atteints d'affections des voies urinaires, qui présentaient des accidents divers de l'empoisonnement urineux. Cependant, l'inoculation sous-cutanée de la Bactérie isolée par ces derniers auteurs provoque habituellement chez l'animal un abcès localisé et rarement une infection générale, qu'amènent du reste toujours les injections intraveineuses ou celles faites dans les cavités séreuses. D'après Morelle (2), le Bacille de Clado et celui d'Albarran et Hallé ne sont autres que le *Bacillus lactis aerogenes* (p. 768).

Blanc (3) a isolé des urines d'éclamptiques un microbe pathogène dont l'inoculation aux animaux détermine des accidents généraux graves, souvent mortels, convulsifs et infectieux.

Les éléments sont de courts bâtonnets, à extrémités arrondies, mesurant environ 2 μ de longueur, isolés ou associés par deux, très mobiles. Ils prennent facilement les couleurs d'aniline, en se colorant surtout dans la partie centrale. Dans le sang et les vieilles cultures, la longueur est au moins double.

En culture sur plaques, on obtient des colonies peu épaisses, arrondies, d'un blanc bleuâtre, ne liquéfiant pas la gélatine.

En piqûre sur gélatine, il se développe dans le canal une traînée blanche qui ne s'accroît que lentement; en strie, il se forme une bande gris bleuâtre nacré.

Sur pomme de terre, la culture est jaunâtre, assez épaisse.

Le bouillon se trouble en quarante-huit heures; il s'y forme un dépôt grisâtre, grumeleux.

L'inoculation d'une assez forte proportion de culture, 1 à 2 centimètres cubes, dans la veine auriculaire de lapins ou de chiens, peut déterminer, en peu de temps, l'apparition de convulsions violentes, suivies à bref délai de la mort de l'animal. La gravidité constitue,

(1) Albarran et Hallé, Note sur une Bactérie pyogène et sur son rôle dans l'infection urinaire (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 21 août 1888). — Albarran, *Traité de chirurgie*, t. IX.

(2) Morelle, Étude bactériologique sur les cystites (*La Cellule*, 1892).

(3) Blanc, Action pathogène d'un microbe trouvé dans les urines d'éclamptiques (*Arch. de tocol.*, XVI, 1889, p. 182).

pour ces accidents, une prédisposition évidente. Les animaux qui résistent présentent une tuméfaction inflammatoire intense aux points d'inoculation ; il s'y forme ensuite une plaque de gangrène, longue à guérir. Après guérison de ces accidents, les animaux jouissent d'une immunité très grande envers de nouvelles inoculations, mais cet état n'est pas absolu. On peut observer des symptômes tardifs d'infection générale, se manifestant par des abcès miliaires, de la fièvre, des lésions de néphrite infectieuse avec albuminurie.

On ne peut encore émettre que des suppositions sur le rôle que joue ce microbe dans l'étiologie de l'*éclampsie*, qu'il faut très probablement ranger parmi les maladies infectieuses microbiennes, mais pouvant être sous la dépendance de plusieurs espèces pathogènes (1).

Doyen (2), en étudiant les urines de cystite et de pyélo-néphrite, a obtenu en culture quatorze espèces de Bactéries, qu'il n'a malheureusement pas cherché à rapprocher des espèces connues. Plusieurs ont une action pathogène manifeste : d'autres sont tout à fait inoffensives. Son *Micrococcus urinæ flavus olearius* paraît être le *Staphylocoque doré*; ses *Micrococcus urinæ albus olearius* et *M. urinæ albus olearius*, le *Staphylocoque blanc*; son *Micrococcus urinæ major*, le *Streptocoque pyogène*. Plusieurs de ses Bacilles sont à rapporter au *Colibacille* et au *Bacillus lactis aerogenes*.

Krögius (3) signale dans les mêmes conditions un Bacille pathogène, *Urobacillus liquefaciens septicus*, qui se distingue surtout de celui de Clado en ce qu'il liquéfie la gélatine. Ce sont des bâtonnets mobiles, de 1,8 μ à 3,6 μ de longueur sur une largeur invariable de 0,9 μ. On rencontre parfois de longs filaments, pouvant atteindre 50 μ. Ces éléments se colorent facilement par les couleurs d'aniline et se décolorent par la méthode de Gram.

La gélatine est rapidement liquéfiée sans présenter de caractères bien spéciaux. Sur gélose, la culture est épaisse, saillante, d'un gris sale, s'entourant d'une zone très mince, transparente, atteignant les bords du tube. Sur pomme de terre, c'est une couche assez abondante, d'un brun jaunâtre. Toutes les cultures dégagent de l'ammoniaque et ont une odeur d'urine putréfiée. Dans l'urine stérilisée, ce microbe détermine une fermentation ammoniacale très énergique.

Chez le lapin, l'injection dans les veines, sous la peau ou dans la cavité péritonéale, de un demi à 1 centimètre cube de bouillon de culture, détermine presque à coup sûr la mort de l'animal, parfois rapidement, en quelques jours, souvent après un laps de temps assez long. On peut observer, au point d'inoculation à la peau, un œdème séro-sanguinolent, le tissu s'ulcère et peut même se sphacéler. L'animal tombe dans une prostration profonde ; il apparaît des mouvements convulsifs intenses, puis la mort survient. Le cobaye est sinon réfractaire, du moins très peu sensible.

Les bouillons de culture stérilisés sont encore toxiques, mais à un degré moindre que les cultures vivantes.

(1) Cheinisse, Théories pathogéniques de l'éclampsie (*Sem. méd.*, 4 juin 1898, p. 249).

(2) Doyen, Sur les Bactéries de l'urine (*Bull. de l'Acad. de méd.*, XVI, 1889, et *Journ. des conn. méd.*, 1889).

(3) Krögius, Note sur un Bacille pathogène trouvé dans les urines pathologiques (*Soc. de Biol.*, 25 juillet 1890).

Ce microbe n'est peut-être pas à différencier du *Proteus vulgaris*.

Dans des conditions semblables, Le Noir a rencontré le *Bacille pyocyanique* (Voy. p. 863). Il est très probable que d'autres espèces microbiennes peuvent occasionner des symptômes du même ordre.

De nombreux travaux démontrent avec évidence qu'il faut attribuer au *Colibacille* de beaucoup la plus grande part dans l'infection urinaire, qu'il est l'agent le plus fréquent non seulement de la cystite, mais aussi de la pyélite et de la pyélo-néphrite suppurée (1).

BACILLUS INDICUS Koch.

Koch l'a trouvé aux Indes, dans le contenu stomacal d'un singe. Cette espèce produit une très belle matière colorante rouge, très voisine du pigment du *Micrococcus prodigiosus*, d'une teinte plus jaunâtre toutefois, rappelant le rouge-brique.

Ce sont des Bacilles très courts, menus, à extrémités arrondies, plus mobiles que les cellules du *Micrococcus prodigiosus*. Ils se cultivent facilement sur tous les milieux à la température ordinaire, mais présentent un optimum de végétation à 35 degrés.

En culture sur plaques, on distingue, en un jour, dans la gélatine, de petites colonies jaunâtres, à bords sinueux. Celles de la surface sont plus grandes ou plus claires. La gélatine est rapidement liquéfiée.

En piqûre, dans un tube de gélatine, la liquéfaction se fait aussi vite que celle du *Micrococcus prodigiosus*. La partie supérieure du liquide est colorée en rouge-brique.

Sur gélose, il se forme d'abord une bande blanche qui devient ensuite rouge-brique ; les bords des cultures larges restent souvent blancs.

Le sérum est liquéfié ; les cultures sur ce milieu se colorent peu ou pas du tout.

Sur pomme de terre, on obtient, par inoculation en strie, une couche épaisse, de nuance vermillon, différente de la colonie pourpre que produit sur ce milieu l'autre espèce.

La matière colorante est insoluble dans l'eau et soluble dans l'alcool. La solution est rouge-brique ; traitée par des traces d'ammoniaque, elle vire au pourpre et devient semblable à la solution de pigment du *Micrococcus prodigiosus* ; l'acide acétique la ramène à la teinte primitive.

Mais la principale différence entre les deux espèces est leur action sur l'organisme animal. Tandis que des doses massives de *Micrococcus prodigiosus*, injectées dans le sang, ne provoquent aucun trouble chez les lapins, une proportion assez grande, quoique beaucoup moins forte, de *Bacillus indicus*, introduite par la même voie, tue ces animaux en un temps très court, de trois à vingt heures d'ordinaire. Presque immédiatement après l'opération, ils sont pris d'une diarrhée très violente. On leur trouve à l'autopsie les signes d'une gastro-entérite aiguë et souvent la muqueuse intestinale ulcérée.

(1) Melchior, Die Bedeutung der *Bacterium coli* für die Pathologie der Harnewege (*Centralbl. für Krankheit. der Sex. und Harnorgane*, VII, 1897, p. 229). — Albarran, Hallé et Legrain, Des infections vésicales (*Assoc. franç. d'urol.*, 3e session, octobre 1898 ; *Ann. des mal. des org. gén.-urin.*, XVI, 1898, p. 1159). — Legueu, *Traité de hirurgie*, t. IX, art. Infection urinaire.

BACILLE DE LA SEPTICÉMIE GANGRENEUSE DE LA GRENOUILLE Legrain.

Atlas de microbiologie, pl. xlix.

Les grenouilles, conservées dans les aquariums, présentent souvent des mutilations des doigts et même de toute une portion de membre. L'affection, qui s'observe surtout aux pouces des mâles, débute par une tuméfaction des phalanges ; la peau devient rouge, se sphacèle, pendant que le gonflement gagne l'avant-bras. Les muscles de la partie intéressée se désagrègent ; il ne reste plus, au bout d'une huitaine de jours, que les os et les tendons ; puis la nécrose les atteint. Cette gangrène peut se remarquer aux quatre membres et au sternum, à la face interne des jambes, où la peau repose directement sur l'os. L'animal tombe la plupart du temps dans un état de torpeur excessive, puis meurt. La guérison peut se faire au prix d'une portion plus ou moins considérable du membre lésé.

A l'autopsie, on trouve les lésions typiques des affections septicémiques. Le foie est devenu très friable, a une couleur terne, brunâtre ou ardoisée ; la rate est rouge, molle. Tout l'intestin est hypérémié, gonflé par un mucus épais, sanguinolent, spumeux.

Legrain (1), qui a étudié cette maladie dans mon laboratoire, a montré que cette affection, contagieuse et inoculable, était due à des Bactéries que l'on rencontre en abondance dans le sang et les sérosités des parties atteintes surtout, qu'il a pu isoler et obtenir en cultures pures, à l'aide desquelles il a réussi à reproduire les troubles observés.

C'est bien certainement cette espèce que Sanarelli (2) a décrite plus tard comme nouvelle sous le nom de *Bacillus hydrophilus fuscus*, qu'il dit avoir isolée de l'eau, et aussi celle que Ernst (3) a décrite sous le nom de *Bacillus ranicida*.

Ce sont des bâtonnets très mobiles, mesurant 1,8 μ de long et 0,6 μ à 0,8 μ de large, qui se colorent assez bien aux couleurs d'aniline, mais cèdent leur couleur avec une facilité extrême et se *décolorent* par la méthode de Gram. Souvent les deux extrémités se colorent seules et peuvent donner l'illusion de Diplocoques. Dans les vieilles cultures, on rencontre des éléments arrondis, de 0,4 μ à 0,6 μ de diamètre, peu mobiles, qui sont peut-être des spores.

L'espèce est aérobie et se cultive facilement sur tous les milieux.

En *cultures sur plaques de gélatine*, il se forme, à 22°, en un jour, de petites colonies circulaires, granuleuses. Le centre devient plus sombre, s'entoure d'un anneau floconneux, puis d'une zone périphérique claire de gélatine liquéfiée. La liquéfaction se fait dès lors très vite.

(1) Legrain, Sur une septicémie gangreneuse de la grenouille (*Soc. de Biol.*, avril 1888).

(2) Sanarelli, Ueber einen neuen Mikroorganismen des Wassers, welcher für Thiere mit veränderlicher und konstanter-Temperatur pathogen ist (*Centralbl. für Bakt.*, IX, 1891, p. 193).

(3) Ernst, Die Frühjahresseuche der Frösche und ihre Abhängigkeit von Temperatureinflüssen (*Ziegler's Beiträge*, VIII, 1890, p. 203).

En *piqûre dans la gélatine*, la liquéfaction est également rapide ; il se produit en très peu de temps un large entonnoir, rempli d'un liquide trouble, à la pointe duquel s'est déposé un sédiment épais, grisâtre. La gélatine liquéfiée est fortement alcaline.

Sur *gélose* à 30-35°, en trois jours, on peut obtenir une large bande d'un blanc grisâtre mat, friable.

Sur *pomme de terre*, la culture est épaisse, jaune bistre, à bord sinueux, à odeur spéciale rappelant un peu celle de tabac mouillé.

Dans le *bouillon*, en dix heures on observe déjà un léger trouble qui s'accentue et donne un dépôt floconneux, léger.

Les cultures sont très virulentes pour les grenouilles. L'inoculation de faibles doses donne toujours des résultats positifs. L'injection dans les sacs lymphatiques détermine une véritable septicémie, sans accidents locaux, avec des symptômes viscéraux rappelant ceux qui ont été indiqués au début. Le foie est très modifié, brun noir, très friable, gorgé de sang ; les cellules hépatiques sont altérées ; on trouve des Bactéries même dans leur intérieur. La rate est hypertrophiée. L'estomac et l'intestin sont remplis de mucus spumeux, rougeâtre ; les glandes sont très altérées. Les piqûres aux membres antérieurs peuvent ne déterminer que des accidents locaux guérissables ; en quarante-huit heures, le membre est très tuméfié, rouge. L'infection peut se généraliser, la grenouille ne tarde pas alors à succomber. L'introduction de fortes doses dans l'estomac ne produit aucun trouble. De semblables accidents se développent par inoculation aux crapauds, aux lézards et à certains poissons, le barbeau et l'anguille par exemple.

La virulence ne reste pas identique dans les différentes cultures. Celles sur pomme de terre sont les plus actives. Les cultures sur gélatine perdent assez vite de leur vitalité ; mais, fait intéressant, elles récupèrent leur virulence si on les fait passer sur des pommes de terre. C'est, je crois, un des faits des plus nets de récupération de virulence par un changement de milieu de culture qui ait été signalé.

L'inoculation aux cobayes n'occasionne pas ou presque pas de réaction. Les lapins sont au contraire très sensibles et succombent facilement. Il en est de même des souris blanches. On peut déterminer des accidents septicémiques chez les poulets et les pigeons, mais seulement par inoculation intraveineuse.

BACILLE DE LA PESTE DES TRUITES.

Il a été observé par Emmerich et Weibel (1) dans une épidémie sévissant sur des truites (*Forellenseuche*).

C'est un Bacille court, immobile, ne formant pas de spores et se décolorant par la méthode de Gram.

La gélatine est rapidement liquéfiée par ce microbe. Il se développe dans le bouillon en donnant des flocons qui flottent dans le liquide et se sédimentent à la longue ; le liquide reste clair. Sur gélose, il donne un mince revêtement gris jaunâtre, puis brunâtre. Rien du tout sur pomme de terre.

(1) Emmerich et Weibel, Ueber eine durch Bakterien erzeugte Seuche unter den Forellen (*Arch. für Hygiene*, XXI, 1894, p. 1).

L'injection sous-cutanée de cultures pures détermine chez des truites des symptômes identiques à ceux de l'infection spontanée.

La maladie paraît être en rapport avec la stagnation et la mauvaise qualité de l'eau.

Une infection similaire pourraît être déterminée par le *Proteus vulgaris*.

BACILLE DE LA PESTE DES ÉCREVISSES.

Il a été isolé par Hofer (1) du tissu musculaire d'écrevisses ayant succombé à l'infection si répandue aujourd'hui.

C'est un petit Bacille de 1 μ à 1,5 μ de long sur 0,25 μ de large, à extrémités arrondies, très mobile. Il se colore bien aux couleurs d'aniline et se *décolore* à la méthode de Gram.

Il est anaérobie facultatif et végète bien sur les milieux de culture habituels entre 15 et 37 degrés.

Sur *plaques de gélatine*, les colonies superficielles sont minces, aplaties, nacrées et granuleuses ; les colonies, profondes, sont discoïdes, jaunâtres, à bords sinueux, à surface granuleuse. La gelée se liquéfie autour des colonies et dégage une odeur de sperme.

Sur *gélatine* en piqûre, il se forme une cupule de liquéfaction pleine d'un liquide trouble.

Sur *gélose*, il donne un revêtement muqueux légèrement irisé.

Le *sérum* est rapidement liquéfié ; il se développe d'abord une odeur agréable qui rappelle celle du miel, puis plus tard de l'hydrogène sulfuré.

Sur *pomme de terre*, la culture est minime, muqueuse, jaune brunâtre.

Le *lait* est coagulé par formation d'acide.

Le *bouillon*, les *liqueurs minérales* sont uniformément troublées.

Le microbe fait fermenter le glucose, le saccharose et le lactose. Il réduit les nitrates. Il donne de l'hydrogène sulfuré dans les milieux contenant du soufre et forme un peu d'indol dans le bouillon.

Il est extrêmement pathogène pour l'écrevisse. L'inoculation d'une très petite quantité de culture la fait périr parfois en vingt-quatre heures. Par voie digestive, avec des aliments souillés, on reproduit les symptômes de la maladie en question.

Beaucoup de poissons meurent après inoculation sous-cutanée de cultures. Les grenouilles paraissent réfractaires.

Les cobayes et les lapins ne ressentent rien des inoculations sous-cutanées, mais périssent en un ou deux jours après inoculation intra-péritonéale de 1 à 2 centimètres cubes de culture.

BACILLUS ALVEI Watson-Cheyne et Cheshire.

Watson-Cheyne et Cheshire (2) l'ont isolé d'une maladie qui sévit fréquemment en Angleterre sur les abeilles. Elle y est connue sous le nom de *Fool-brod* et décime surtout les larves, qui meurent en peu

(1) Weber, Zur Aetiologie der Krebspest (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, XV, 1899).

(2) Watson-Cheyne et Cheshire, The pathogenic history under cultivation of a new Bacillus (*B. alvei*) (*Journ. of the roy. Microscop. Soc.*, 1885).

de temps en prenant une couleur jaunâtre et devenant très molles.

On trouve dans le liquide recueilli dans le corps de très nombreuses Bactéries en bâtonnets, lentement mobiles, mesurant 3,5 μ de long sur 0,8 μ de large, à extrémités arrondies. Après la mort des larves, les Bacilles donnent des spores très caractéristiques. Elles sont ovales, beaucoup plus grosses que les bâtonnets qui se renflent alors considérablement à l'endroit où elles se forment; elles atteignent 2,12 μ de longueur sur une largeur de 0,07 μ. Les bâtonnets se trouvant souvent accolés en rangées assez grandes suivant la longueur, les spores qui s'y forment gardent cette situation après la disparition de la membrane de leur cellule mère (fig. 293). Les Bacilles se colorent assez bien et *ne se décolorent pas* par la méthode de Gram. Les spores se colorent à chaud dans un bain préparé à l'aide d'eau anilinée.



Fig. 293. — *Bacillus alvei* (d'après une photographie de Crookshank).

Le *Bacillus alvei* se cultive facilement à une température de 15 à 20°. C'est un anaérobie facultatif. Les éléments des cultures sont souvent plus longs et forment parfois des filaments. Les spores se produisent assez bien dans les bâtonnets isolés et des filaments.

En *cultures sur plaques*, il se forme, au bout de peu de temps, de petites colonies ovoïdes, de l'une des extrémités desquelles partent de nombreux prolongements qui s'irradient dans la gélatine. Ces tractus, d'épaisseur inégale, comprenant en largeur, selon l'endroit, un, deux, trois bâtonnets ou plus, peuvent se séparer de la colonie primitive et rester isolés dans la gelée. La liquéfaction se produit lentement, autour de chacun de ces prolongements au début.

En *piqûre dans un tube de gélatine*, le développement est curieux. Il se produit, à la surface et le long du canal, des prolongements radiaires, pénétrant dans la gélatine sous forme de longs filaments. La liquéfaction est lente; elle envahit progressivement toute la longueur du tube: au fond, se dépose un sédiment blanc floconneux.

Sur *gélose* et sur *sérum*, la culture donne une mince couche blanchâtre, opaque; sur *pomme de terre*, une couche jaunâtre.

Cultivée dans du *lait*, cette espèce en provoque rapidement la coagulation. Le coagulum formé est dissous et l'on ne trouve que des traces d'acide. Il est probable que de la présure est sécrétée au début pour coaguler la caséine et préparer l'action de la diastase, qui la dissout ensuite.

Toutes les cultures dégagent une odeur fade, urineuse.

Les auteurs cités ont pu reproduire une maladie ayant toutes les allures du fool-brod chez des abeilles et des mouches nourries avec des substances infectées à l'aide de cultures pures.

Les injections sous-cutanées, faites à des souris et des lapins, n'ont pas montré d'action nocive bien évidente. Une souris est morte en un jour en offrant simplement un gonflement œdémateux au point d'inoculation. La sérosité de l'œdème contenait de nombreux Bacilles. Un

cobaye est mort en six jours en montrant à l'endroit de la piqûre une nécrose de la peau et des muscles superficiels.

Vignal (1) a cru retrouver le *Bacillus alvei* parmi les Bactéries de la bouche. Son *Bacillus d*, qu'il assimile à cette espèce et que j'ai rencontré dans le tartre dentaire de l'homme et du chien, donne des colonies d'aspect semblable à celles du *Bacillus alvei*, mais les spores qui s'observent très facilement dans les vieilles cultures n'ont pas un diamètre supérieur à celui de l'article où elles se forment; les bâtonnets ne présentent jamais, aux endroits où se forment les spores, les renflements si caractéristiques. L'espèce de Vignal se rapproche assurément bien plus du *Bacillus Zopfii*.

D'après Lortet (2), la *loque* des abeilles serait également une affection bactérienne. Le microbe qui la produit serait un court bâtonnet qui se rencontre en abondance dans le contenu intestinal; ce même microbe se retrouve dans le miel des ruches atteintes.

BACILLE DE LA SYPHILIS Lustgarten.

Lustgarten (3) annonçait, en 1884, la découverte, dans les sécrétions et tissus syphilitiques, d'un Bacille spécial, se distinguant surtout par sa situation dans l'intérieur des cellules migratrices et la façon dont il se comportait envers les matières colorantes.

Le procédé de coloration qu'il indique est assez particulier; il est, du reste, connu sous le nom de *Méthode de Lustgarten*. Les lamelles. préparées avec les sécrétions ou les coupes de tissus malades, sont soumises, de douze à vingt-quatre heures, à l'action d'un bain colorant d'eau anilinée additionnée de violet de gentiane, que l'on porte ensuite à l'étuve à 40° pendant deux heures. On lave les lamelles à l'eau distillée et les coupes à l'alcool; puis on les plonge pendant dix secondes dans une solution de permanganate de potasse à 1 p. 100. Il se forme tout autour un précipité floconneux, brunâtre, d'oxyde de manganèse. Les préparations sont alors passées dans une solution aqueuse concentrée d'acide sulfureux, qui doit être fraîchement préparée en faisant agir de l'acide sulfurique sur la tournure de cuivre, et conservée dans de petits flacons bien bouchés et qu'on ouvre successivement pour l'usage. On lave à l'eau distillée, puis on repasse dans le permanganate de potasse et l'acide sulfureux, et ainsi de suite, trois, quatre et six fois, jusqu'à décoloration complète. Les préparations sont alors lavées, déshydratées par l'alcool, éclaircies par l'essence de cèdre et montées dans le baume.

On colore de cette façon des Bacilles qui sont libres ou plus souvent renfermés dans les cellules, soit isolés, soit par groupes de deux à huit. Ils mesurent de 3 à 7 μ de long sur 0,2 à 0,3 μ de large; ils sont souvent courbés, parfois même en S; ils présentent fréquemment des vacuoles ovoïdes que Lustgarten regarde sans preuves comme des spores, ou sont moniliformes, comme certains *Bacilles de la tuberculose*.

(1) Vignal, Recherches sur les microorganismes de la bouche (*Arch. de phys.*, 1886).
(2) Lortet, La Bactérie loqueuse. Traitement de la loque par le naphtol β (*Revue intern. d'agricult.*, février 1890).
(3) Lustgarten, Die Syphilisbacillen. Wien, 1885.

Giacomi (1), qui a trouvé un Bacille semblable dans les sécrétions syphilitiques, use d'une méthode plus simple. Il colore dans l'eau anilinée additionnée de fuchsine, maintenue bouillante, puis traite par une solution faible de perchlorure de fer, obtenue par le mélange de deux à trois gouttes de solution concentrée à 50 grammes d'eau. Le perchlorure acide paraît mieux convenir.

Doutrelepont et Schütz (2) ont fréquemment rencontré le Bacille de Lustgarten, en colorant les coupes à l'aide d'une solution aqueuse de violet de gentiane et décolorant à l'acide nitrique très dilué, en solution au 1/15, et à l'alcool à 60° pendant une dizaine de minutes. Une double coloration est facile avec l'éosine ou la safranine.

Leloir (3) dit avoir employé avec succès ce dernier procédé de coloration.

Sabouraud (4), sur cinquante et une pièce de syphilis, n'a obtenu que des résultats négatifs.

Le *Bacille de Lustgarten* ne paraît être que le microbe décrit ci-après sous le nom de *Bacille du smegma*.

Van Niessen (5) décrit sous le nom de *Bacillus veneris* un microbe qui se trouverait dans le sang des syphilitiques pendant la période secondaire et dans certaines lésions syphilitiques non ulcérées. L'aspect des éléments rappelle le *Bacille de la diphtérie* ; on en trouve de ramifiés, de renflés en massue.

Ces éléments se colorent bien aux méthodes ordinaires, *restent colorés* par la méthode de Gram, et, fréquemment mais pas toujours, par la méthode précédente de Lustgarten, pas du tout par la méthode d'Ehrlich.

Le microbe croît facilement sur tous les milieux habituels.

La culture sur gélatine est très lente ; la colonie est blanchâtre ou un peu jaune. Sur gélose, la culture est muqueuse, filante, bien jaune. Le bouillon se trouble, abandonne un léger dépôt et présente un voile mince et très délicat. L'optimum de température paraît être de 28 à 32 degrés.

Les cultures seraient pathogènes pour les porcs et les singes. On pourrait observer la production d'ulcérations au point d'inoculation et une sorte de processus général septicémique.

Ces données demandent confirmation.

BACILLE DU SMEGMA.

Alvarez et Tavel (6) ont rencontré dans un grand nombre de sécrétions normales et dans quelques sécrétions pathologiques non syphilitiques, en particulier dans le *smegma préputial*, un Bacille identique

(1) Giacomi, Neue Färbungsmethode der Syphilisbacillen (*Correspondenzbl. für Schweizer Aertze*, XV).

(2) Doutrelepont et Schutz, Ueber Bacillen bei Syphilis (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1885, p. 320).

(3) Leloir, *Progrès méd.*, 1883, n° 29.

(4) Sabouraud, Quelques faits relatifs à la méthode de coloration de Lustgarten *Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 184).

(5) Van Niessen, *Wiener med. Presse*, 1899, n° 11 et 18.

(6) Alvarez et Tavel, Recherches sur le Bacille de Lustgarten (*Arch. de phys.*, 1885, p. 303).

par sa forme et ses réactions colorantes au Bacille de Lustgarten ; on l'a nommé *Bacille du smegma*.

Ils procèdent de la façon suivante : Les lamelles ou les coupes sont colorées dans un bain chaud d'eau anilinée additionnée de fuchsine ; puis lavées et passées pendant quinze à vingt secondes dans l'acide nitrique au tiers, enfin lavées à l'eau distillée. La préparation, séchée à une douce chaleur, est montée dans le baume.

Les différents procédés de coloration employés pour le *Bacille de la tuberculose* donnent, du reste, de bons résultats et colorent aussi le *Bacille du smegma* (fig. 294), à tel point que nous avons vu qu'il était nécessaire de recourir à des particularités secondaires de la coloration pour distinguer ces deux espèces (p. 508 et 540).

Le *Bacille du smegma* présente une résistance moindre à la décoloration que le *Bacille de la tuberculose*. Ce dernier résiste longtemps à l'acide acétique glacial, alors que le *Bacille du smegma* est décoloré par lui en moins de deux minutes ; l'alcool décolore rapidement le dernier et n'agit que très lentement sur le premier.

D'après certains auteurs, la résistance spéciale du *Bacille du smegma* à la décoloration ne s'observerait que lorsque ce microbe est imprégné de matière grasse qu'il emprunterait au milieu où il se développe ; d'autres en font une qualité particulière au microbe, plus ou moins développée suivant le cas. En tout cas, cette réaction colorante est due, ici comme chez le *Bacille tuberculeux*, à la présence de matière grasse ou cireuse qu'un long traitement par l'alcool fort ou, mieux, un séjour d'une dizaine de minutes dans de la lessive de soude additionnée de 5 p. 100 d'alcool, enlève facilement; la réaction fait alors défaut, alors que dans des conditions identiques le *Bacille de la tuberculose* reste encore coloré après action de l'acide.

Il se distingue en outre du *Bacille de la tuberculose* parce qu'on en obtient facilement des cultures dans les conditions habituelles.

Les caractères des bâtonnets sont bien ceux donnés pour le Bacille de Lustgarten qui ne doit pas en être distingué.

Laser (1) a le premier obtenu des cultures en prenant de la semence sur des plaques muqueuses syphilitiques. Il recommande comme meilleur milieu la gélose à la surface de laquelle on a étalé un peu de sang humain recueilli aseptiquement. Il s'y forme de très petites colonies à la surface. Ces cultures ne donnent rien sur gélatine, presque rien sur gélose ordinaire et sur bouillon. Sur sérum et sur gélose glycérinée, on a de petites colonies transparentes, ressemblant à des gouttes de rosée. Le microbe pousse sur pomme de terre, mais sans former de colonie visible. La gélose et la gélatine glucosée permettent aussi un petit développement.

Czaplewski (2), en partant de pus blennorragique, a pu cultiver ce même microbe sur le milieu recommandé par Wassermann pour le Gonocoque (Nutroseserum agar, p. 393). Il y forme de petites colonies arrondies qu'il est facile de reporter sur d'autres milieux. Sur sérum peptonisé, on obtient, en deux jours, des colonies gris jaunâtre qui

(1) Laser, Ueber Reinkulturen der Smegmabacillen (*Münch. med. Wochenschr.*, 1897, p. 1191).

(2) Czaplewski, Zur Kenntniss der Smegmabacillen (*Münch. med. Wochenschr.*, 1897, p. 1192).

peuvent confluer en une bande assez épaisse. Sur gélose glycérinée, en deux jours il s'est formé une colonie assez épaisse, grisâtre. Sur gélatine, le développement est lent à cause de la basse température à employer; il se fait une mince culture transparente. Le bouillon se trouble; on voit de petites écailles à la surface.

Les Bacilles des cultures sont immobiles et présentent les réactions colorantes spéciales.

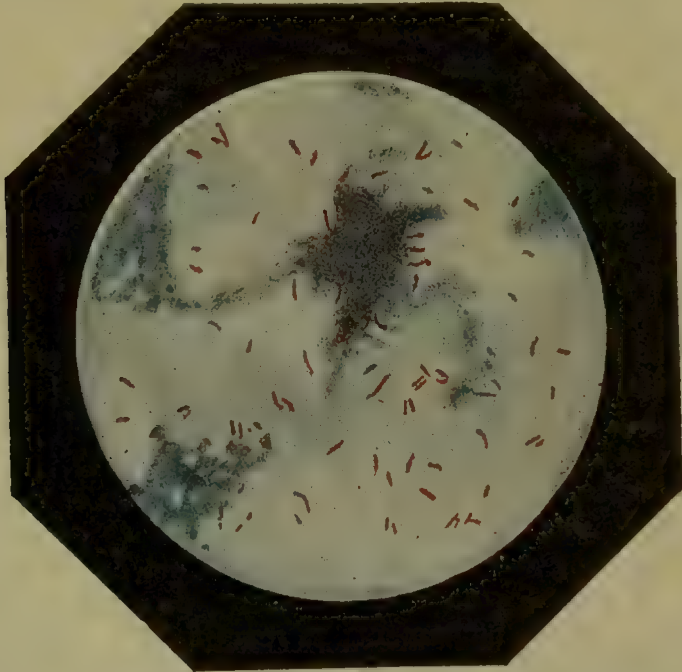


Fig. 294. — Bacille du smegma. Coloration par la méthode d'Ehrlich.

Le microbe paraît n'avoir aucune propriété pathogène.

Le *Bacille du smegma* semble être assez répandu chez l'homme. On l'a signalé dans la bouche, dans les crachats (1), dans l'urine, sur la peau, dans des sécrétions très diverses (2); il est nécessaire de s'en souvenir lorsqu'on fait la recherche du *Bacille de la tuberculose* dans ces produits; il faut user des caractères différentiels, sans quoi on pourrait s'exposer à un diagnostic fautif. Il a probablement quelques rapports avec les Bacilles résistant aussi à la décoloration par les acides, signalés dans les matières fécales, le beurre, etc. (p. 541).

BACILLE DU CHANCRE MOU.

Atlas de microbiologie, pl. XXV.

Ce bacille a été trouvé en premier lieu par Ducrey (3), en 1889, dans le pus du chancre mou, rencontré à nouveau par Krefting (4) en 1891,

(1) Pappenheim, Befund von Smegmabacillen im menschlichen Lungmauswurf *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1898, p. 809). — Fraenkel, Einige Bemerkungen über das Vorkommen von Smegmabacillen im Sputum (*Ibid.*, p. 880).

(2) Bunge et Trautenroth, Smegma und Tuberkelbacillen (*Fortschr. der Med.*, 1896. nos 23 et 24).

(3) Ducrey, Experimentelle Untersuch. über den Ansteckungstoffe des weissen Schankers (*Monatsh. für prakt. Dermat.*, IX, 1889).

(4) Krefting, Ueber die für Ulcus molle specifische Mikrobe (*Arch. für Dermat.*, 1892, p. 41).

et bien étudié par Unna (1) en 1892. On le rencontre aussi dans le pus des bubons chancrelleux.

Ce sont des bâtonnets courts, de 1,3 μ à 2 μ de long, sur 0,5 μ à 1 μ de large, à extrémités arrondies, parfois un peu étranglés au milieu, parfois isolés, plus souvent réunis par deux, trois, quatre ou plus, jusqu'à vingt et même une centaine, en chaînettes plus ou moins longues, d'où le nom de *Streptobacille du chancre mou* qu'on lui donne souvent; d'autres fois, ils forment de petits amas.

Ils se colorent facilement aux couleurs d'aniline et se décolorent très vite par les acides ou l'alcool; ils se *décolorent* par la méthode de Gram. La matière colorante ne se fixe souvent qu'aux extrémités des bâtonnets, la partie centrale restant claire.

Les cultures semblent très difficiles à obtenir. Petersen (2) dit l'avoir cultivé une fois sur gélose au sérum, où il donne dans les parties profondes de petites colonies rondes, floconneuses, légèrement jaunâtres.

Istamanoff et Akspiantz (3) auraient réussi en employant de la gélose faite avec une macération de peau humaine; leurs cultures auraient pu reproduire le chancre mou chez l'homme.

Lenglet (4) aurait également eu de bons résultats en suivant la même voie, en employant des milieux renfermant les produits de l'action de ferments solubles énergiques sur les éléments protéiques de la peau humaine. Il n'a pas été possible d'acclimater le microbe aux milieux ordinaires. Les colonies obtenues sont formées d'un *Streptobacille* identique à celui que l'on trouve dans le chancre. L'inoculation à l'homme donne une chancrelle typique. Les inoculations sous-cutanées, intra-péritonéales, aux animaux sont toujours restées inoffensives.

Le virus du chancre mou paraît pouvoir être inoculé avec succès à certains animaux. Quinquaud et Nicolle (5) disent avoir réussi sur le singe, le lapin et le cobaye.

Il est très contagieux pour l'homme, comme le démontrent un grand nombre d'expériences; l'inoculation reproduit toujours un chancre mou typique. Une première atteinte ne crée aucune immunité; le chancre mou est indéfiniment réinoculable en série sur le même individu.

La recherche de ce microbe peut rendre de grands services en permettant de distinguer rapidement un chancre mou d'un chancre syphilitique. On peut le rechercher dans le liquide exsudé ou dans les coupes de chancres excisés (6).

Pour le rechercher dans le liquide, il vaut mieux essuyer d'abord la surface de l'ulcération avec un tampon d'ouate pour enlever les nombreux microbes étrangers qui y ont pullulé, puis après on racle légèrement la

(1) Unna, Der Streptobacillus des weichen Schankers (*Monatsh. für prakt. Dermat.*, XIV, 1892, p. 485).

(2) Petersen, Ueber Bacillenbefunde beim Ulcus molle (*Centralbl. für Bakt.*, XIII, 1893, p. 743).

(3) Istamanoff et Akspiantz, Bactériologie du chancre mou (*Soc. méd. du Caucase*, décembre 1897).

(4) Lenglet, Culture du Bacille du chancre mou (*Soc. de dermat.*, 10 novembre 1898).

(5) Quinquaud et Nicolle, Sur le microbe du chancre mou (*Soc. franç. de dermat. et de syph.*, 7 juillet 1892).

(6) Nicolle, Rech. sur le chancre mou. Thèse de Paris, 1893.

surface de l'ulcération et on étend le pus recueilli sur une lamelle, sans l'écraser. On laisse sécher et on fixe, puis on colore au violet de gentiane ou au liquide d'Unna dont il est parlé ci-après ; on lave à l'eau et on examine la préparation. On voit les Bacilles disposés en courtes chaînettes, tantôt entre les globules de pus, tantôt dans leur intérieur.

Pour le rechercher dans les coupes, d'après Nicolle, on fixe la pièce en la plongeant, aussitôt après l'excision, dans la solution suivante :

Sublimé	3gr,5
Eau distillée	100 grammes.
Acide acétique cristallisable	1 gramme.

On la laisse y séjourner pendant un jour. La pièce est ensuite lavée vingt-quatre heures à l'eau courante. On la coupe en petits morceaux qu'on déshydrate en les laissant pendant quarante-huit heures dans l'acétone que l'on renouvelle trois ou quatre fois. Puis, les morceaux sont mis successivement vingt-quatre heures dans le xylol, quarante-huit heures à 55° dans un mélange à parties égales de xylol et de paraffine, et enfin vingt-quatre heures dans la paraffine. Les coupes faites et collées sont laissées deux à trois minutes dans la solution suivante :

℞ Bleu de toluidine	50 centigrammes.
Alcool absolu	10 grammes.

Faites dissoudre et ajoutez peu à peu :

Eau	100 grammes.
Acide phénique	1 gramme.

On les traite ensuite pendant quelques secondes par une solution aqueuse de tannin au dixième, qui fixe la couleur, par l'alcool absolu, par le xylol et on monte dans le baume.

Unna emploie le procédé suivant : Les coupes, fixées à l'alcool, sont portées dans la solution suivante :

Carbonate de potassium	1 gramme.
Bleu de méthyle	1 —
Eau distillée	100 grammes.
Alcool	20 —

Chauffer jusqu'à réduction à 100 centimètres cubes.
Ajouter :

Bleu de méthylène	1 gramme.
Borax	1 —
Eau distillée	100 grammes.

La coloration est bonne après deux minutes. La coupe est placée sur un porte-objet ; l'excès de solution est enlevé avec du buvard. Puis la coupe est traitée quelques secondes par une goutte d'un mélange d'éther et de glycérine qui enlève l'excès de matière colorante ; on enlève le liquide avec du buvard. Enfin, on peut déshydrater par l'alcool, l'essence de bergamote et inclure dans le baume.

Ces préparations montrent des Bacilles en nombre variable, souvent en grand nombre, disposés en longues chaînes fréquemment parallèles entre elles ; on en peut rencontrer dans l'intérieur d'éléments cellulaires.

BACILLE DE LA POURRITURE D'HÔPITAL.

Il semble que l'on doive considérer comme l'agent de cette complication des plaies, si répandue autrefois, rare aujourd'hui, un Bacille que Vincent (1) a rencontré en Algérie, dans des cas typiques de pourriture d'hôpital, sur des Kabyles rapatriés de Madagascar, et peu après Coyon (2) à Paris.

C'est un long Bacille mesurant en moyenne de 4 μ à 8 μ de long sur 1 μ de large, le plus souvent droit, parfois courbé, même en S allongé. Les extrémités ne sont pas carrées, mais amincies ou arrondies.

Les bâtonnets sont le plus souvent réunis par deux. Ils se colorent facilement aux couleurs d'aniline, mais souvent irrégulièrement, par places. Ils se *décolorent* par la méthode de Gram.

Ils sont toujours très nombreux dans l'exsudat grisâtre, épais, pouvant ressembler presque à une fausse membrane, fétide ; dans les cas graves, ils s'y trouvent en nombre considérable, constituant pour ainsi dire à eux seuls cette matière pulpeuse. En suspension dans un liquide, ils paraissent être immobiles.

A côté d'eux, l'exsudat renferme quelques Microcoques, quelques rares formes bacillaires autres, et plus souvent un très fin Spirille difficile à colorer, se décolorant par le Gram.

Tous les essais de cultures, faits sur bien des milieux, en présence d'air ou sans air, ont échoué.

Vincent n'a pas réussi à donner la maladie aux animaux d'expérience auxquels il avait fait des lésions diverses, parfois très étendues, même après section des nerfs ou ligature des vaisseaux de la région. Il a obtenu une minime production d'exsudat fétide, bacillaire, sur des plaies de lapins cachectiques ou affaiblis ; ce qui paraît démontrer que la débilitation est une cause nettement prédisposante. Coyon a obtenu le développement d'une véritable pourriture d'hôpital chez un cobaye auquel il avait fait une plaie profonde, anfractueuse, dont le fond avait été largement ensemencé avec l'exsudat sanieux d'un cas humain.

Il faut peut-être ici l'adjonction d'autres microbes qui agissent en désorganisant d'abord les tissus.

Le microbe paraît beaucoup résister aux antiseptiques. C'est ce qui explique les insuccès des traitements antiseptiques ordinaires, ce qu'on a observé depuis longtemps. La poudre de camphre, largement employée, préconisée dès 1870 par Netter (3), donne par contre d'excellents résultats.

(1) Vincent, Sur l'étiol. et sur les lésions anatomo-pathol. de la pourriture d'hôpital (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 488).

(2) Coyon, Note sur un cas de pourriture d'hôpital (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 660).

(3) Netter, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1871, 1er semestre, p. 246.

BACILLE FUSIFORME DE VINCENT.

Tout près du *Bacille de la pourriture d'hôpital*, on doit placer un Bacille rencontré par Vincent (1), Bernheim (2) et Thiry (3), dans des cas d'amygdalite ou de stomatite ulcéro-membraneuses, pouvant montrer des fausses membranes d'aspect diphtéroïde.

Les exsudats des lésions renferment d'ordinaire un grand nombre de Bacilles d'un aspect particulier, longs, renflés à la partie médiane, à extrémités s'effilant graduellement, ayant assez nettement la forme d'un fuseau. La longueur varie de 5 à 10 μ, avec 7 μ comme moyenne; la largeur de la partie renflée est de 0,6 μ. Certains, assez courts, sont réunis deux par deux. Le plus grand nombre sont droits, d'autres sont courbés, en virgule, en arc ou même en S allongé. Il est tout à fait exceptionnel d'en trouver trois ou quatre réunis en file (fig. 295).

Dans les coupes de fausses membranes, ils forment de gros amas ou des couches épaisses vers la partie moyenne.

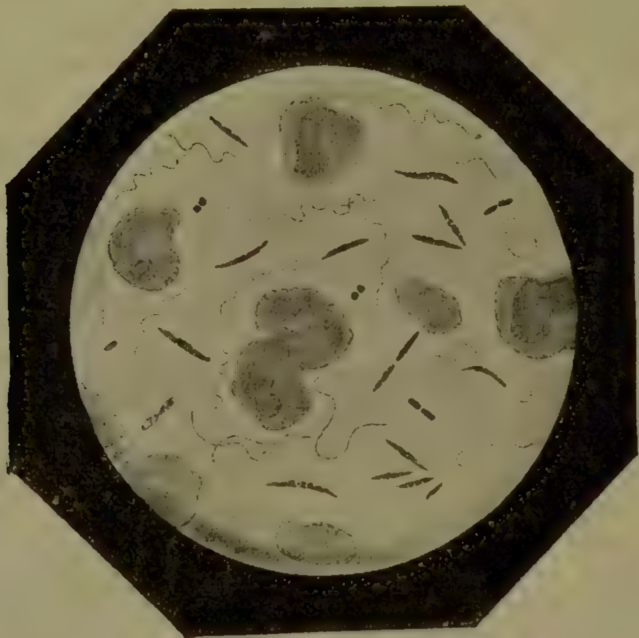


Fig. 295. — Bacille fusiforme de Vincent. 1000/1.

Leur coloration est facile, surtout avec le bleu de Loeffler, la fuchsine ou les violets phéniqués. Ils se *décolorent* par la méthode de Gram, mais souvent incomplètement ou seulement par une longue action de l'alcool.

Le corps des Bacilles colorés peut présenter une ou plusieurs vacuoles arrondies, inégales.

(1) Vincent, Sur l'étiologie et sur les lésions anatomo-pathologiques de la pourriture d'hôpital (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896). — *Id.*, Sur une forme particulière d'angine diphtéroïde (*Soc. méd. des hôp.*, 11 mars 1898). — *Id.*, Nouvelles recherches sur l'angine diphtéroïde à Bacilles fusiformes (*Soc. méd. des hôp.*, 13 janvier 1899).

(2) Bernheim, Ueber einen bakteriologischen Befund bei Stomatitis ulcerosa (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 177).

(3) Raoult et Thiry, Des amygdalites ulcéro-membraneuses chancriformes avec Spirilles et Bacilles fusiformes de Vincent (*Soc. franç. de laryng.*, mai 1898).

On remarque fréquemment des formes d'involution, éléments filamenteux, bosselés, irréguliers, très renflés au centre.

On ne leur reconnaît ni capsules, ni spores.

D'après Bernheim et Abel, ces Bacilles ont un mouvement vacillant lent. Beaucoup d'autres les regardent comme immobiles.

De nombreux essais de culture, faits en variant les milieux et les conditions, n'ont donné aucun résultat. Abel (1) aurait obtenu deux générations sur sérum sanguin, en satellitisme avec des colonies de Diplocoques.

Les tentatives d'inoculation des exsudats qui en contiennent aux animaux n'ont pas abouti.

Comme dans la pourriture d'hôpital, le *Bacille fusiforme* est toujours associé à de nombreux Spirilles très fins (fig. 295), de longueur variable, très mobiles, plus difficiles à colorer que les Bacilles et restant toujours très pâles, se décolorant nettement par la méthode de Gram. Ces Spirilles ressemblent beaucoup à ceux qui ont été décrits dans la bouche ou le tartre dentaire. Les essais de culture ont toujours été négatifs.

La coexistence de ces deux formes est tellement constante qu'il y a lieu de conclure à une véritable symbiose microbienne. Comme le Spirille peut quelquefois manquer, on doit attribuer le principal rôle pathogène au Bacille, le Spirille paraissant agir à titre de microbe favorisant.

Tous ces caractères rapprochent beaucoup les lésions en question de celles de la pourriture d'hôpital telles qu'elles ont été décrites par Vincent ; il y aurait peut-être lieu d'en identifier les microbes.

Ces données ont été confirmées depuis par de nombreuses observations nouvelles (2).

BACILLE DU RHINOSCLÉROME.

C'est une maladie rare en Europe, assez commune dans l'Amérique centrale, caractérisée par l'épaississement et l'induration de la muqueuse nasale et de la peau du nez et des parties voisines. Il se forme, dans ces tissus, des plaques ou des nodosités dures, saillantes, douloureuses à la pression. L'affection est due à la pullulation, souvent excessive, dans les lymphatiques et à l'intérieur des cellules, de Bactéries spéciales. La marche est en général très longue ; l'altération ne semble pas pouvoir se produire en dehors du lieu infecté. L'étude en a été surtout faite par Cornil et Alvarez (3).

Les Bactéries décrites ont des dimensions très variables. En moyenne, elles ont une longueur de 2,5 μ à 3 μ et une largeur de 0,6 μ à 0,8 μ ; on trouve cependant des individus parfaitement ronds et d'autres pouvant atteindre jusque 7 μ. On les colore bien aux solutions ordi-

(1) Abel, Zur Bakteriologie der Stomatitis und Angina ulcerosa (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 1).

(2) Panoff, Contribution à l'étude de l'angine ulcéro-membraneuse chancriforme de la stomatite ulcéro-membraneuse avec Bacilles fusiformes de Vincent et Spirilles. Thèse de Nancy, 1899.

(3) Cornil et Alvarez, Mémoire pour servir à l'histoire du rhinosclérome (*Arch. de phys.*, 1885, p. 11). — Alvarez, Anat. path. du rhinosclérome (*Arch. de phys.*, 1886, p. 196). — Castex, *Traité de chirurgie clinique* publié sous la direction de Le Dentu et P. Delbet, V, 1897.

naires, dans des coupes ou sur des préparations faites avec du liquide exprimé des tissus malades; la méthode de Gram *ne les décolore que très peu.* Elles sont entourées d'une capsule qui reste souvent faiblement colorée après la décoloration ou qu'on parvient à teindre par une double coloration à la safranine.

Paltauf et Eiselsberg (1) et Dittrich (2) ont décrit les premiers les caractères des cultures.

Les cultures sur gélatine ont une grande ressemblance avec celles du *Pneumobacille de Friedlaender*; on observe la formation d'une colonie blanche, en forme de clou, qui n'atteint que des dimensions moyennes. La gélatine n'est jamais liquéfiée. La tête du clou reste toujours grisâtre, un peu transparente et ne devient jamais d'un blanc opaque.

Dans le bouillon, il se forme, en deux ou trois jours, un dépôt nuageux, blanchâtre, filant, qui ne se mêle que difficilement au liquide.

Les cultures sur les autres milieux n'ont rien d'intéressant.

Les Bactéries des cultures, excepté celles du bouillon, se montrent souvent entourées d'une capsule.

Les cultures inoculées sous la peau du chien, du lapin, du cobaye ou de la souris, ne produisent aucun trouble; on n'observe même pas de suppuration au point d'inoculation. En injection dans la muqueuse nasale, il ne se produit aucune modification. L'injection dans la plèvre peut tuer les cobayes, sans qu'on puisse découvrir de lésions pleurales ou pulmonaires.

En somme, ce microbe paraît très voisin du *Pneumobacille de Friedlaender*, sinon identique à lui. Il en diffère peut-être par quelques caractères peu importants, la transparence plus grande des cultures sur gélatine, la décoloration incomplète par la méthode de Gram, la fréquence de la capsule dans les éléments des cultures. Quel rôle joue-t-il dans la production de la tumeur nasale ? On ne le sait pas. Il pourrait du reste se rencontrer sur la muqueuse nasale saine de l'homme et des animaux (3).

BACILLE DE L'OZÈNE.

L'ozène est une affection des fosses nasales connue depuis très longtemps et caractérisée par l'odeur extrêmement nauséabonde de l'air expiré par les sujets qui en sont atteints, d'où vient son nom vulgaire de *punaisie.* La muqueuse des fosses nasales présente des altérations toutes spéciales; elle s'atrophie et finit par être réduite à une mince couche pelliculaire, couverte, par places, de croûtes très adhérentes, exhalant à un haut degré l'odeur répugnante caractéristique.

L'affection paraît due à l'envahissement de la muqueuse par une Bactérie qui a été bien décrite comme espèce distincte par Lœwenberg (4) dès 1884. Les recherches ultérieures, en particulier celles

(1) Paltauf et Eiselsberg, *Fortschr. der Med.*, 1886, n° 19.

(2) Dittrich, Ueber das Rhinosclerom (*Zeitschr. für Heilk.*, VIII, 1887). Et : Die Aetiologie der Rhinoscleroms (*Centralbl. für Bakt.*, V, 1889, p. 145).

(3) De Simoni, Ueber das nichtseltene Vorkommen von Frisch'sen Bacillen in der Nasenschleimhaut des Menschen und der Thiere (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 625).

(4) Lœwenberg, De la nature et du traitement de l'ozène (*Union méd.*, 1884).

d'Abel (1) et du premier auteur cité (2), n'ont fait que confirmer et étendre ces résultats.

Le *Bacille de l'ozène* se trouve très facilement dans le mucus ozénique, surtout dans les filaments muqueux qui se rencontrent toujours entre la cloison et les cornets.

Les éléments sont des bâtonnets courts et trapus, immobiles, associés par deux ou plus, en chaînes. Ils se colorent très bien aux couleurs d'aniline et se *décolorent* par la méthode de Gram.

Dans le mucus nasal et dans le sang des animaux morts à la suite d'inoculations, ils montrent toujours, d'une façon bien évidente, une capsule assez épaisse, qui ne se colore pas ou très faiblement. Dans les cultures, tantôt on constate la présence de la capsule, tantôt elle fait défaut.

Les cultures s'obtiennent très facilement sur les milieux habituels ; elles se développent même à la température ordinaire. Elles poussent aussi à l'abri de l'air, mais moins abondamment.

Sur *plaques de gélatine*, il se forme, dans l'épaisseur de la gelée, de petites colonies rondes, jaunâtres ; à la surface, des colonies étalées, demi-transparentes, d'un blanc plus ou moins laiteux, de consistance visqueuse, devenant irrégulières à la longue. La gélatine n'est *pas liquéfiée*.

Sur *gélatine*, en *piqûre*, on obtient une culture en clou à tête aplatie, élargie.

Sur *gélose* et sur *sérum*, il se développe une bande d'un blanc grisâtre.

Dans le *bouillon* peptonisé, simple ou sucré, le liquide se trouble et forme lentement, au fond du vase, un petit dépôt de grumeaux ou de filaments, au-dessus duquel le liquide paraît clair. Le bouillon ne dégage pas de gaz et reste alcalin.

Sur *pomme de terre*, la culture est abondante. C'est d'abord une bande muqueuse, blanchâtre ou jaunâtre ; la colonie, très visqueuse, filante, s'étale, devient foncée, brunâtre, et communique même la nuance à la pomme de terre ; il se développe souvent des bulles gazeuses.

Dans le *lait*, le développement est très peu abondant ; l'aspect du milieu ne change pas, pour Lœwenberg. D'après Robineau (3), au contraire, le microbe pousse abondamment sur le milieu et le coagule assez régulièrement.

Le microbe fait fermenter le glucose, la dextrine, la mannite, le galactose, l'arabinose, le maltose, le lactose, le saccharose, le lévulose, le dextrose et la xylose. Pas la dulcite, l'inuline, la pinite et la quercite.

Les cultures ne développent pas l'odeur si pénétrante de la punaisie, mais au contraire une odeur éthérée agréable, rappelant souvent celle de la fleur de sureau. Seules les cultures sur viande, fraîche ou stérilisée, dégagent une odeur de putréfaction qui n'est toutefois pas celle de l'ozène. On ne constate jamais la réaction de l'indol.

Les cultures, celles sur gélose surtout, sont pathogènes pour les animaux d'expérience.

En inoculation sous-cutanée, à la dose d'une goutte d'émulsion, elles tuent rapidement les souris blanches ou grises. On trouve peu de

(1) ABEL, Bakteriologische Studien über Ozaena simplex (*Centralbl. für Bakt.*, XIII, 1893, p. 161).
(2) LŒWENBERG, Le microbe de l'ozène (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894 p. 292).
(3) ROBINEAU, Étude du microbe de l'ozène. Thèse de Paris, 1899.

lésions à l'autopsie, beaucoup de Bacilles encapsulés dans le sang, pas dans les tissus des organes.

Les cobayes résistent à l'inoculation sous-cutanée, mais succombent toujours aux injections intrapéritonéales. L'exsudat du péritoine montre le Bacille spécial en abondance.

Les lapins succombent aux inoculations intraveineuses ou intrapéritonéales. Perez (1) a pu reproduire expérimentalement l'atrophie de la muqueuse pituitaire qui caractérise l'ozène vrai.

Dans les cultures en liquides, filtrées sur bougie, on voit que le microbe sécrète un ou plusieurs poisons solubles, actifs sur le lapin et le cobaye, sans aucun effet sur la souris.

Par tous ses caractères, ce Bacille ressemble au *Pneumobacille de Friedlaender* ; les caractères donnés comme différentiels ou bien ne se rencontrent pas réellement, ou sont d'une importance absolument secondaire.

BACILLE DE LA CONJONCTIVITE AIGUË.

Weeks (2), Kartulis (3), Morax (4) reconnaissent comme l'agent le plus fréquent de la conjonctivite aiguë, catarrhale ou purulente, une Bactérie en bâtonnets qui est souvent désignée sous le nom de *Bacille de Weeks*.

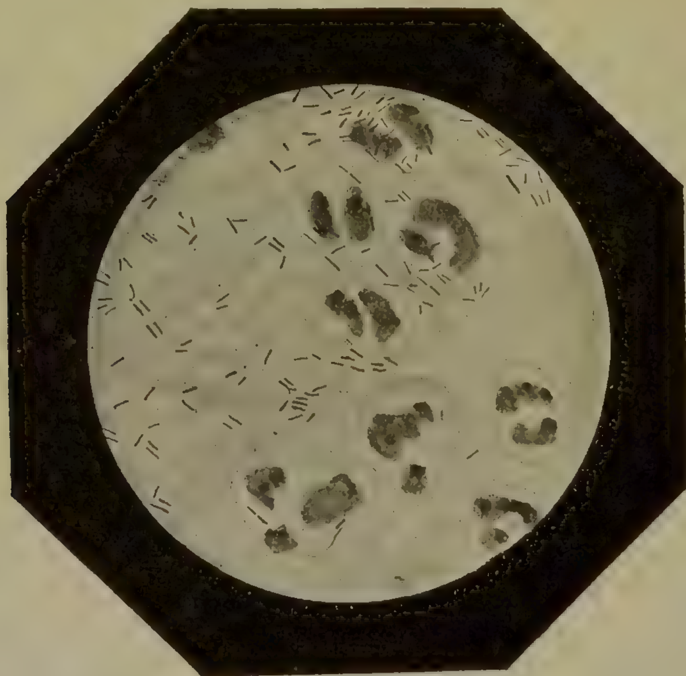


Fig. 296. — Bacille de Koch-Weeks dans du pus de conjonctivite aiguë.

Ce sont de très fins Bacilles, immobiles, réunis par deux ou en

(1) Perez, Recherches sur la bactériologie de l'ozène (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 937).

(2) Weeks, Der Bacillus des akuten Bindehautcatarrhs (*Arch. für Augenheilk.*, XVII, 1887, p. 318).

(3) Kartulis, Zur Aetiologie der ägyptischen catarrhalischen Conjunctivitis (*Centralbl. für Bakt.*, I, p. 289).

(4) Morax, Recherches bactériologiques sur l'étiologie des conjonctivites aiguës. Thèse de Paris, 1895.

petit nombre formant de courtes chaînettes (fig. 296). Ils se *décolorent* par la méthode de Gram. On les rencontre souvent dans l'intérieur des globules de pus.

Ils ne poussent pas ou très peu sur les milieux de culture ordinaires ; bien, au contraire, sur les milieux additionnés de sang, de sérum, ou de sérosité humaine ou animale, la gélose additionnée de un tiers de liquide d'ascite par exemple.

Les cultures, mises au contact de la conjonctive d'animaux, ne déterminent aucune inflammation. Chez l'homme, par contre, il suffit d'en déposer une trace sur la conjonctive pour voir se produire une conjonctivite aiguë typique.

D'autres microbes peuvent aussi occasionner chez l'homme des conjonctivites aiguës ; ce sont surtout, par ordre de fréquence, le *Gonocoque*, le *Streptocoque pyogène*, le *Pneumocoque*, le *Bacille de la diphtérie.*

BACILLE DE LA CONJONCTIVITE CHRONIQUE.

Morax (1) a décrit comme l'agent de la conjonctivite subaiguë ou chronique un Bacille de 2 à 3 μ de long sur 1 à 1,5 μ de large, le plus souvent réuni par deux en Diplobacille, d'où le nom de *Diplobacille de la conjonctivite* (fig. 297). Axenfeld (2) arrivait presque en même temps à la même conclusion.

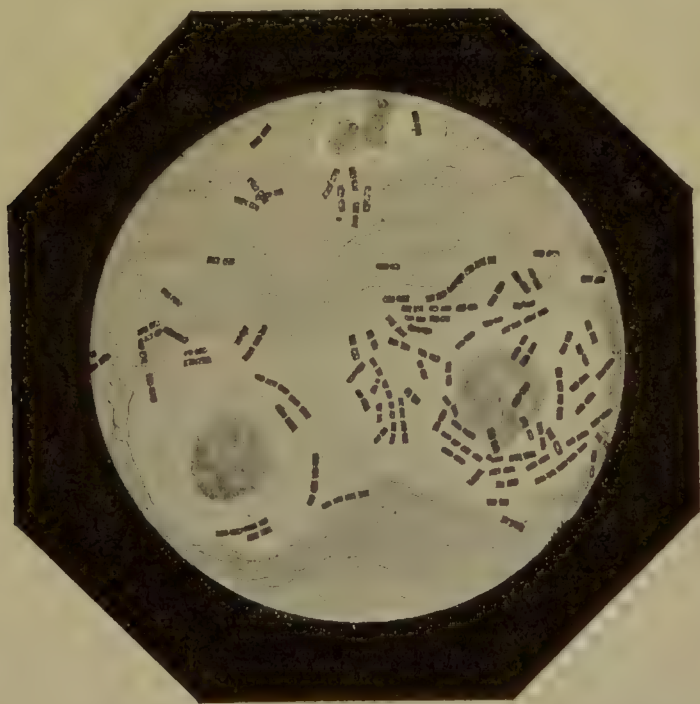


Fig. 297. — Diplobacille de la conjonctivite. Pus de conjonctivite chronique.

Ces bâtonnets sont immobiles ; ils ressemblent beaucoup au *Pneumobacille*, mais ne montrent jamais de capsule.

(1) Morax, Note sur un Diplobacille pathogène pour la conjonctive humaine (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 337).

(2) Axenfeld, Ueber die chronische Diplobacillenconjonctivitis (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 1).

Ils se colorent facilement aux couleurs d'aniline et se *décolorent* par la méthode de Gram.

On les trouve souvent en grande quantité dans la sécrétion conjonctivale, surtout prise au niveau de la caroncule lacrymale, libres ou inclus dans les globules de pus et les cellules épithéliales desquamées.

Ils ne se cultivent pas sur les milieux de culture ordinaires, bouillon, gélose ou gélatine; mais bien sur les milieux divers additionnés d'un tiers de sérum ou de sérosité humaine ou animale (1).

Sur gélose au sérum, on voit, après vingt-quatre heures à l'étuve, se développer de nombreuses colonies transparentes, grisâtres, assez semblables à celles que forme le *Pneumocoque*, mais un peu plus opaques. Au-dessous de 24°, le développement ne se fait pas ; la température favorable est entre 31 et 37 degrés.

Dans le bouillon additionné de sérum, le trouble est bien prononcé en vingt-quatre heures ; par agitation, le liquide prend un aspect moiré dû aux chaînettes qu'il renferme.

Les cultures ne se font pas sans air. Le microbe est peu résistant vis-à-vis de la chaleur ; une température de 58°, maintenue pendant un quart d'heure, suffit à le tuer. On ne constate jamais de production d'indol.

L'inoculation des cultures sur la conjonctive des animaux ne provoque aucune réaction, même à fortes doses.

L'injection sous-cutanée ou intramusculaire ne produit aucun trouble chez la souris, le cobaye, le lapin ; il en est de même de l'injection intraveineuse chez le lapin. Il suffit, par contre, de déposer une goutte de culture dans le cul-de-sac conjonctival de l'homme pour voir le Bacille s'y développer et provoquer, après quelques jours, une affection en tous points identique au type clinique bien connu.

BACILLE DE LA SÉBORRHÉE GRASSE Sabouraud.

Sabouraud (2) décrit comme agent de la séborrhée grasse et de la pelade commune, une Bactérie en bâtonnets qu'il désigne sous le nom de *Bacille (Microbacille) de la séborrhée grasse.* Lorsque ce microbe est jeune et coloré par la méthode de Gram, il a presque l'aspect d'un coccus, mesurant à peu près 1 μ de long ; adulte, la longueur l'emporte sur la largeur, c'est un petit bâtonnet de 1 μ de long sur 0,5 μ de large. Le plus souvent isolé dans l'exsudat, ou par deux, on peut l'y trouver parfois en courtes chaînes. Sur les coupes de la peau malade, on le rencontre surtout, formant des amas ovoïdes, dans le tiers supérieur du follicule pileux auquel est annexée la glande sébacée dont la sécrétion est modifiée. Dans les cultures, il est tout à fait immobile.

Comme bien des microbes de la peau, il demande des milieux acides et fortement azotés ; l'addition de 2 p.100 de glycérine, celle d'un tiers d'urine sont utiles. Le milieu que recommande Sabouraud est ainsi composé :

Peptone	20	grammes.
Glycérine	28	—
Acide acétique cristallisable	5	gouttes.
Eau	1000	grammes.
Gélose	13	—

(1) Eyre, A clinical and bacteriological Study of Diplobacillary Conjonctivitis (*Journ. of Path. and Bact.*, VI, 1899, p. 1).

(2) Sabouraud, La séborrhée grasse et la pelade (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1897).

Pour l'obtenir, on racle, avec le dos d'un scalpel, la peau de la région malade après l'avoir préalablement lavée à l'éther, et on ensemence par frottis le sébum recueilli. Il est, en général, plus facile de l'isoler de la séborrhée du corps et du visage que du cuir chevelu et des comédons.

Les *colonies* qui viennent sur le milieu appartiennent à diverses espèces. Celles du microbe en question sont visibles du troisième au quatrième jour à 35° ; elles prennent vite une forme conique acuminée et en quinze jours elles peuvent arriver à une saillie de 2 millimètres.

Le microbe meurt rapidement à 70°, mais résiste bien à 65-67°. Une pasteurisation maintenue à ces dernières températures pendant dix heures tue les autres espèces et respecte le Microbacille qui peut alors donner des cultures pures bien reconnaissables déjà après cinq ou six jours.

Les cultures sur *gélose* forment un cône saillant, de 2 millimètres de haut environ, mamelonné. D'abord blanches, elles deviennent rosées. Elles ne sont pas du tout adhérentes au milieu.

Dans le *bouillon*, on observe un trouble intense et il se dépose un sédiment boueux grisâtre.

Le développement ne se fait qu'à partir de 30° ; l'optimum semble être vers 35° ; à 39°, une diminution est déjà sensible.

Les inoculations aux animaux ne sont pas probantes jusqu'ici. En général, les hôtes microbiens de la peau humaine se montrent très peu actifs à l'égard des animaux d'expérience.

Dans les plaques peladiques au début, tous les follicules pileux sont infectés par le *Microbacille de la séborrhée grasse*. Sabouraud en conclut que la plaque peladique est une infection locale aiguë de séborrhée grasse.

Le soufre paraît être de beaucoup la substance qui agisse le mieux sur ce parasite, surtout avec les corps gras comme véhicule.

BACILLE DANS LE CANCER.

La contagiosité des tumeurs malignes, carcinome et sarcome spécialement, a été depuis longtemps soutenue par des praticiens des plus éminents, sans cependant qu'aucun expérimentateur ait pu fournir à l'appui des preuves bien évidentes. Il en est de même de la présence dans ces affections d'une Bactérie spécifique dont la nature, les caractères, l'action pathogène, sont loin d'être suffisamment démontrés pour qu'on ne soit en droit de se défendre du doute, si nécessaire et surtout si scientifique dans de semblables questions.

Rappin (1) aurait signalé en 1886, dans la *Gazette médicale de Nantes*, la présence constante de Bactéries dans les tumeurs cancéreuses de diverse nature. C'était des Diplocoques de 1 μ à 1,5 μ de long, liquéfiant la gélatine, se cultivant facilement sur tous les milieux. On ne peut absolument rien conclure des résultats expérimentaux annoncés.

Scheurlen (2) a pu isoler, par les cultures des tissus cancéreux, une

(1) Rappin, Recherches sur l'étiologie des tumeurs malignes. Nantes, 1887.

(2) Scheurlen, Ueber die Aetiologie des Carcinoms (*Sitzung des Vereins für innere Med. in Berlin den 28 november 1887*, et *Deutsche med. Wochenschr.*, 1887, n° 48, p. 1033).

Bactérie spéciale, qu'il considère comme le véritable agent pathogène de l'affection.

Les cultures réussissent surtout sur sérum solidifié. Scheurlen a usé de préférence des sérosités pathologiques de la pleurésie, de l'ascite, de l'hydrocèle.

Les tubes préparés sont ensemencés avec des fragments de tumeur ou de suc de raclage pris avec les précautions antiseptiques voulues, dès l'autopsie ou aussitôt après l'ablation quand il s'agit de tumeurs opérées dans de bonnes conditions, avant l'ulcération, de cancers du sein par exemple. En plaçant ces tubes à l'étuve à 39°, dès le troisième jour on remarque que toute la surface est recouverte d'une pellicule incolore, qui se plisse peu à peu et prend, après plusieurs jours ou plusieurs semaines, une couleur jaune brunâtre ; souvent cette pellicule est parsemée de petites gouttelettes liquides.

Ces cultures sont formées de Bacilles courts et trapus, mesurant de 1,5 μ à 2,5 μ de long et 0,5 μ de large, animés d'un mouvement lent d'oscillation. Beaucoup renferment des spores ellipsoïdes, brillantes, de 1,5 μ sur 0,8 μ. Les Bacilles se colorent facilement; mais lorsqu'on les traite par la méthode de Gram ils se décolorent en partie par passage à l'alcool ; les extrémités restent colorées. Les spores se colorent par un séjour d'une demi-heure à une heure dans un bain bouillant à l'eau anilinée ; elles gardent leur coloration lorsqu'on les traite par l'acide azotique au tiers. Ce sont ces spores, dit Scheurlen, que l'on peut retrouver, à l'examen microscopique, dans le suc cancéreux. Les Bacilles sont plus difficiles à reconnaître ; l'auteur n'a jamais pu en constater la présence dans les coupes de tissus.

Les Bacilles des cultures sur sérum pourraient croître sur gélose. Ils y forment, après douze heures à 39°, une pellicule brillante, incolore, fissurée, constituée uniquement par des bâtonnets. Les spores apparaissaient de douze à vingt-quatre heures. On remarque parfois un léger nuage partant de la strie et pénétrant dans la gelée. Les résultats sont moins certains en inoculant des fragments de tumeurs ; Scheurlen n'a réussi dans ce cas à obtenir des cultures que six fois sur soixante-dix.

Le développement se fait aussi sur gélatine, mais il y est très lent. En piqûre, on observe, au bout de huit à quinze jours, la formation à la surface, sans liquéfaction appréciable, d'une dépression cupuliforme, qui se recouvre d'une pellicule ridée.

Sur pomme de terre, cette Bactérie forme, de douze à vingt-quatre heures, une pellicule jaune, ridée, qui s'étale sur toute la surface.

Dans les bouillons, il se produit un voile ridé ; au fond du vase, il se dépose un sédiment noir brunâtre.

L'inoculation de produit de culture n'a pas donné de résultats bien démonstratifs. Des chiennes, qui avaient reçu des injections dans les glandes mammaires, ont offert, à la place d'inoculation, de petites tumeurs molles, atteignant le volume d'un haricot à celui d'une noix, dans le tissu desquelles Scheurlen a pu constater les Bacilles des cultures. C'est surtout en se basant sur ces résultats, qu'il dit un peu légèrement positifs, que l'auteur se croit autorisé à considérer la Bactérie qu'il a isolée comme le véritable facteur étiologique du cancer. L'étude a besoin encore, on le voit, d'être reprise, étendue et approfondie; d'autant plus qu'il serait curieux de voir un organisme dont la

végétation en cultures est si rapide, évoluer si lentement dans le corps humain et y déterminer une affection à terminaison prolongée, en quelque sorte chronique, alors qu'il semblerait plus en rapport avec sa vitalité d'en occasionner une à marche rapide et aiguë.

Ballance et Shastock (1), en expérimentant comme Scheurlen, n'ont obtenu qu'exceptionnellement des cultures ; la plupart de leurs tubes sont restés stériles.

Par contre, Domingos Freire (2) confirme les résultats obtenus par Scheurlen et conteste même à ce dernier son droit de priorité.

Pour bien des observateurs, le Bacille de Scheurlen ne serait qu'une des espèces saprophytes de l'air, peut-être l'une des espèces dénommées *Bacilles de la pomme de terre.*

Il est cependant, dans certaines tumeurs, des Bactéries qui paraissent jouer un rôle important, sinon dans la production de la néoformation, du moins dans sa marche et sa destinée. Leur action est loin encore d'être nettement connue. Elles peuvent modifier la nutrition de la tumeur, accélérer sa marche, causer son ulcération ou son ramollissement. Ou bien, elles possèdent des propriétés pathogènes spéciales, en vertu desquelles elles agissent sur l'organisme parfois à la manière des poisons septiques (3).

C'est dans une tumeur que Richet a trouvé son *Micrococcus pyosepticus* (4) (p. 365).

Chez un sujet atteint de leucémie avec tumeurs lymphadéniques multiples, Kelsch et Vaillard (5) ont observé une Bactérie particulière dans le sang pendant la vie et dans les tumeurs enlevées aussitôt après la mort.

C'est un Bacille court, immobile, à peine plus long que large, se colorant facilement aux couleurs d'aniline et se décolorant par la méthode de Gram.

Les cultures se développent vite à 35° et plus lentement à la température ordinaire, à l'air ou à l'abri de l'air.

Sur gélatine, la culture est d'abord translucide, un peu irisée, semblable à celle du Bacille typhique ; plus tard, elle devient plus épaisse.

Sur gélose, ce microbe forme une culture d'abord nacrée, transparente, puis blanche et d'aspect crémeux.

Sur pomme de terre, à 35°, il donne en vingt-quatre heures une culture humide, luisante, d'aspect muqueux, un peu saillante, d'abord blanc jaunâtre, puis brunissant.

L'injection sous-cutanée, à la souris blanche, de 1 centimètre cube de culture, détermine la mort en vingt-quatre heures. Le cobaye et le lapin résistent à cette quantité en injection intraveineuse, mais succombent avec 2 centimètres cubes. On ne trouve nulle part de lésions, mais le sang et le suc des organes renferment le Bacille en abondance.

Moty (6) trouve à peu près constamment dans le sang des sarcoma-

(1) Ballance et Shastock, Report on cultivation Experiments with malignant new Growths (*British med. Journ.*, 1887, p. 929).

(2) Domingos Freire, *Soc. de méd. int. de Berlin*, 1887.

(3) Verneuil, Propriétés pathogènes des microbes renfermés dans les tumeurs malignes (*Revue de chir.*, 1889, p. 793).

(4) Richet, *Arch. de méd. expér.*, I, 1889, p. 673.

(5) Kelsch et Vaillard, Tumeurs lymphadéniques avec leucémie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, p. 276).

(6) Moty, Note sur la pathogénie du sarcome (*Soc. de chir.*, 21 novembre 1894).

teux un Microcoque qui se cultive surtout bien en anaérobie, bien qu'il puisse végéter en présence d'air. Il le donne comme pouvant être l'agent pathogène du sarcome.

De nouvelles recherches semblent indiquer que beaucoup de néoplasmes contiennent des organismes inférieurs d'une autre nature, voisins des Sporozoaires ou des Blastomycètes (1).

BACILLES DANS LA COQUELUCHE.

Différents auteurs ont signalé dans la coqueluche, contagieuse à un haut degré, la présence de Bactéries qu'ils rencontraient en abondance dans le mucus expectoré (2). Aucun fait expérimental n'avait été apporté.

Afanassieff (3) a trouvé, dans dix cas qu'il a examinés, constamment une espèce de Bactérie en fins bâtonnets, de 0,6 μ à 2,2 μ de long, très abondante dans les crachats, ne paraissant pas avoir de rapport avec les éléments cellulaires qu'ils contiennent.

Cette espèce donne, en cultures sur plaques, de petites colonies brunâtres, rondes ou ovales, ne liquéfiant pas la gélatine.

En strie sur gélatine ou gélose, elle donne une couche blanchâtre à la surface et rien dans la profondeur.

Sur pomme de terre, elle forme une culture épaisse, jaune au début, puis brune, qui recouvre rapidement toute la surface.

Les bâtonnets des cultures sont très mobiles. Il se produit des spores dans les vieilles cultures.

Les injections trachéales faites à de jeunes chiens et à de jeunes chats ont déterminé des broncho-pneumonies chez ces animaux; quelques-uns ont eu des accès typiques de coqueluche.

Griffith dit avoir isolé de l'urine de coquelucheux une ptomaïne identique à celle qu'il trouve dans les cultures du Bacille d'Afanassieff et qu'il n'a jamais rencontrée dans l'urine normale.

Koplick (4) trouve dans tous les cas de coqueluche typique, sans aucune complication, un Bacille qu'il regarde comme identique à celui d'Afanassieff. On le trouve très facilement en colorant l'expectoration au bleu de Loeffler. C'est un petit Bacille court, mince, long de 0,8 à 1,7 μ et large de 0,3 à 0,4 μ, mobile.

Il se cultive bien sur les milieux ordinaires et surtout sur les milieux additionnés de liquide d'hydrocèle ; il croît très bien en anaérobie. Sur gélatine, la culture est blanchâtre, assez mince, en clou ; elle ne liquéfie pas la gelée. Sur gélose et sur sérum, la culture est blanche opaque. Dans le bouillon, il se forme un dépôt au fond et à la surface, après une semaine, un léger voile.

(1) Maffuci et Sirleo, Ueber die Blastomyceten als Infektionserreger bei bösartigen Tumoren (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVII, 1898, p. 1). — Roncali, Klinische Beobachtungen und histo und mikrobiotische Untersuchungen über einen Fall von Adenocarcinom (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 61 et suiv.). — San Felice, Ueber die pathogenen Wirkung der Blastomyceten (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIX, 1898, p. 463).

(2) Voy. Cornil et Babès, Les Bactéries, 2e édit., p. 643.

(3) Afanassieff, Aetiologie und klinische Bacteriologie des Keuchhustens (*Saint-Petersb. med. Wochenschr.*, 1887, nos 39, 40, 41, 42).

(4) Koplick, Die Bakteriologie des Keuchhustens (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, p. 222).

Il est pathogène pour la souris blanche qu'il fait périr en une huitaine de jours, par inoculation sous-cutanée d'un demi-centimètre cube, avec des symptômes de septicémie.

L'inoculation sous-cutanée ne donne rien chez le lapin et le cobaye. L'inoculation intraveineuse au lapin produit une sorte de pyémie avec pus dans les articulations.

Czaplewski et Hensel (1) ont isolé un Bacille peu différent de celui de Koplick et d'Afanassieff. Ils en obtiennent facilement des cultures en lavant à l'eau stérilisée des flocons pris dans des expectorations de cas typiques et en ensemençant largement des plaques de sérum peptonisé coagulé.

Les Bacilles des cultures ressemblent beaucoup à ceux qui peuvent s'observer dans les flocons lavés pour les débarrasser des microbes buccaux. Ce sont de très petits bâtonnets à extrémités arrondies, ressemblant beaucoup au *Bacille de l'influenza*, mais un peu plus grands; dans les cultures, la longueur est souvent un peu plus grande. Ils sont isolés, réunis par deux; parfois ils forment des chaînettes. Ils paraissent toujours immobiles.

Ils se colorent bien aux couleurs d'aniline. Après coloration, ils ont souvent l'apparence de Diplocoques; les deux extrémités sont d'ordinaire plus fortement colorées que la partie centrale. Les Bacilles des cultures jeunes *restent colorés* par la méthode de Gram; ceux de l'expectoration, au contraire, se décolorent.

Ce microbe se cultive assez facilement. Il croît bien à 37°, plus lentement à 23°. C'est un anaérobie facultatif; il aime les milieux neutres ou faiblement alcalins: l'addition de glycérine paraît favoriser son développement.

On l'obtient facilement en ensemençant en surface des plaques de sérum peptonisé avec des flocons séparés de l'expectoration et lavés au préalable à l'eau stérilisée. Après vingt-quatre heures, on constate déjà un léger développement; en deux jours, on voit de très petites colonies un peu grisâtres, ressemblant à des gouttes de rosée, que des préparations microscopiques montrent bien être formées des Bacilles décrits plus haut, avec leur coloration plus forte aux extrémités. A côté, on a d'autres colonies de *Staphylocoques*, de *Streptocoques*, de Bactéries diverses. On peut facilement isoler les premières.

Sur *gélatine*, en piqûre, le développement donne à la surface une petite colonie grisâtre, un peu sèche, à bords sinueux, et dans le canal une ligne de petites colonies blanches, sphériques. En strie, c'est une petite bande grisâtre. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur *gélose*, surtout glycérinée ou sucrée, la culture est mince, grisâtre.

Sur *sérum* peptonisé coagulé, elle est gris jaunâtre.

Le *bouillon* se trouble en vingt-quatre heures, puis donne un petit dépôt visqueux.

Sur *pomme de terre*, il ne pousse rien.

Chez les animaux, l'inoculation des cultures ne reproduit rien qui puisse rappeler la coqueluche de l'homme. L'injection intrapulmonaire, chez le lapin, donne de la broncho-pneumonie.

(1) Czaplewski et Hensel, Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten (*Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897, 641 et 721). — Czaplewski, Zur Frage der bei Keuchhusten beschriebeners Polbakterien (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 865).

Les recherches de Lusch (1) confirment tout à fait les données précédentes.

Ritter (2) considère comme l'agent pathogène un Diplocoque très petit, restant coloré par la méthode de Gram, croissant facilement sur gélose, pas sur gélatine, bouillon ni pomme de terre, qu'il a isolé du mucus nasal et bronchique d'enfant coquelucheux. Rien cependant ne démontre sa spécificité. Il en est de même du coccus de Vincenzi (3).

D'après Deichler (4), Kurloff (5), Behla (6), on devrait incriminer des Protozoaires que l'on trouve dans les crachats sous forme de cellules nues, tantôt munies de cils vibratiles, tantôt amœbiformes.

BACILLES DANS LE TYPHUS EXANTHÉMATIQUE.

Hlava (7) dit rencontrer fréquemment dans le sang des malades un Streptobacille qui reste coloré par la méthode de Gram et se cultive facilement dans le bouillon, sur la gélose et le sérum. Les cultures ne sont pas pathogènes pour les lapins, cobayes, rats, oiseaux, chats, chiens ; les petits cochons ont montré une poussée d'érythème cutané à la suite d'inoculations.

A côté de ce microbe, on peut rencontrer en association ou comme agents d'infection secondaire le *Streptocoque pyogène*, le *Pneumobacille*, le *Bacille pseudo-diphtérique*, et un Bacille capsulé qu'il nomme *Vibro proteus ruber*.

Thoinot et Calmette (8) ont signalé dans le sang la présence de petits grains réfringents, de 1 à 2 μ, très mobiles, possédant un court prolongement. Plus tard, ces grains font place à des filaments. Calmette (9) a retrouvé ces formes dans les crachats et l'urine.

Dubief et Bruhl (10) considèrent comme l'agent pathogène un Diplocoque qui se trouve dans le sang pendant la vie et dans les lésions pulmonaires, fréquentes dans le typhus, à l'autopsie.

C'est un microbe aérobie qui liquéfie la gélatine et donne rapidement sur gélose une bande blanche, un peu jaunâtre au centre ; après quarante-huit heures, la culture est devenue jaune orangé. Le lait est coagulé. Les cultures seraient pathogènes pour les lapins et les cobayes.

(1) Lusch, Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 721 et 769).

(2) Ritter, Die Aetiologie des Keuchhustens (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1892, p. 1276). Et : Ueber den Keuchhusten (*Ibid.*, 1896, nos 47 et 48).

(3) Vincenzi, Zur Aetiologie der Tussis convulsiva (*Deutsche med. Wochenschr.* 1898, p. 631).

(4) Deichler, *Zeitschr. für wiss. Zool.*, XLIII, 1886, et XLVIII, 1889.

(5) Kurloff, Keuchhusten-Parasiten (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 513).

(6) Behla, Zur Aetiologie der Tussis convulsiva (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1898, n° 19).

(7) Hlava, O Typhu exanthematickèm (*Acad. François-Joseph de Prague*, 1893, en tchèque, avec résumé en français).

(8) Thoinot et Calmette, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1892.

(9) Calmette, *Ann. de micr.*, 1893, p. 87.

(10) Dubief et Bruhl, Le microbe du typhus exanthématique (*Arch. de méd. expér.*, 1894).

BACILLE DANS LES OREILLONS.

Laveran et Catrin (1) ont isolé du sang et du liquide de ponction des parotides ou des testicules enflammés, un Diplocoque qui donne sur gélatine une petite culture blanche, liquéfiant lentement et tardivement, sur gélose une abondante culture blanche, sur pomme de terre une bande blanchâtre peu développée (Voy. p. 431).

Letzerich (2) a isolé du sang et de l'urine un Bacille court et large, ne se colorant bien qu'aux deux pôles, donnant une culture sèche et mate sur pomme de terre. Il le regarde comme l'agent spécifique du contage.

BACILLE DE LA PÉRIPNEUMONIE DES BOVIDÉS.

La sérosité albumineuse, jaunâtre, limpide, qui se trouve en très grande abondance dans les parties hépatisées du poumon des Bovidés atteints, a un pouvoir virulent considérable. L'inoculation d'une seule goutte sous la peau du tronc d'une vache ou d'un bœuf amène un engorgement considérable, une fièvre intense et souvent la mort.

Le cheval, le porc, le mouton, la chèvre, le chien, le lapin, le cobaye, les volailles, sont tout à fait réfractaires. L'homme également.

De plus, les Bovidés qui ont résisté à l'infection sont devenus réfractaires aux inoculations virulentes et à la contagion naturelle.

Lorsque l'inoculation du virus est faite à l'extrémité de la queue, les symptômes sont bien moins graves; l'animal guérit presque toujours. L'opération est devenue un procédé de vaccination assez employé aujourd'hui.

Tout, dans l'étude de la péripneumonie, indique bien nettement une maladie d'origine microbienne.

Arloing (3) a isolé de la sérosité des poumons péripneumoniques quatre Bactéries distinctes : un Bacille liquéfiant rapidement la gélatine, qu'il nomme *Pneumobacillus liquefaciens bovis* ; un Micrococque non liquéfiant, dont les colonies blanches ressemblent à des gouttes de cire, son *Pneumococcus gutta-cerei* ; un Micrococque donnant des colonies blanchâtres qui deviennent minces, ridées et plissées avec l'âge, son *Pneumococcus lichenoïdes* ; un autre Micrococque à colonies jaune orangé, *Pneumococcus flavescens*.

Pour lui, le *Pneumobacillus liquefaciens bovis* est bien l'agent essentiel de la péripneumonie. Il ne fait jamais défaut dans les lésions aiguës du poumon.

C'est un bâtonnet court, trapu, mobile. Il se colore bien aux couleurs d'aniline et se décolore par la méthode de Gram. Il peut se cultiver à l'air ou sans air.

Le bouillon se trouble uniformément. La gélatine est très vite liquéfiée.

(1) Laveran et Catrin, Recherches bactériologiques sur les oreillons (*Soc. de Biol.*, 28 janvier 1893).

(2) Letzerich, *Allgem. med. Centr. Zeit.*, 21 août 1895.

(3) Arloing, Détermination du microbe producteur de la péripneumonie contagieuse du bœuf (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CIX, 1889, p. 459). — Voy. aussi Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux, p. 222.

Sur pomme de terre, le développement est abondant; il forme une couche épaisse, d'un gris sale, visqueux. Le lait n'est pas coagulé et ne devient pas acide. Les cultures anciennes exhalent une odeur qui rappelle celle de la corne brûlée.

Les cultures sont virulentes ; une petite quantité injectée dans le péritoine d'un cobaye détermine une péritonite rapidement mortelle. Mais rien, toutefois, ne rappelle les effets du virus péripneumonique.

Nocard et Roux (1) disent avoir réussi à isoler le microbe de la péripneumonie en cultivant du virus dans des sacs de collodion, remplis de bouillon, laissés pendant quinze ou vingt jours dans la cavité péritonéale de lapins. Les lapins maigrissent, se cachectisent, peuvent même mourir avant le jour fixé pour leur sacrifice. Leur sang, les sucs de leurs organes, ne donnent rien en cultures ; les troubles observés sont dus à la diffusion de produits toxiques à travers la membrane du sac.

Les sacs ensemencés avec du virus, recueillis au moment voulu, renferment un liquide un peu louche, légèrement albumineux ; tandis que des sacs témoins, non ensemencés, ont conservé leur limpidité primitive.

Le liquide montre, à des grossissements considérables, 2 000 diamètres, et avec un puissant éclairage, une infinité de petits points, réfringents et mobiles, d'une telle ténuité qu'il est difficile, même en faisant agir les colorants, d'en déterminer exactement la forme.

On n'obtient aucun développement en remplaçant le lapin par le cobaye.

Il est facile d'obtenir des cultures successives de cet élément. Il s'agit bien d'un microbe spécial qui pullule dans ces conditions.

Ce microbe peut se cultiver en dehors de l'organisme dans du bouillon de panse de Martin (p. 591) additionné d'une petite quantité de sérum de lapin ou de vache. Ce milieu conserve même mieux la virulence que les passages successifs dans le péritoine de lapins.

L'inoculation aux vaches des cultures en sac ou en bouillon-sérum détermine des symptômes en tout semblables à ceux causés par le virus péripneumonique naturel.

Il semble qu'on soit bien réellement en présence du véritable microbe de la péripneumonie, microbe extrêmement ténu, à dimensions très inférieures à celles des microbes connus.

BACILLE DE LA MALADIE DES JEUNES CHIENS.

Galli-Valerio (2) donne comme l'agent pathogène un bacille ovalaire de 1,25 μ à 2,5 μ de long sur 0,3 μ de large, qui se trouve dans les poumons, le cerveau, la moelle, l'exsudat des méninges des animaux atteints.

Il se développe sur gélatine, en donnant une petite colonie blanche qui s'élargit et creuse le milieu sans jamais le liquéfier. Sur gélose, il forme des colonies blanches qui confluent en une bande à bords sinueux. Sur sérum coagulé, la culture ressemble à celle produite sur gélatine ;

(1) Nocard et Roux, Le microbe de la péripneumonie (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 240).

(2) Galli-Valerio, Der Mikroorganismus der Hundestaupe (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 694).

elle creuse également le milieu. Dans le sérum liquide, il se forme des flocons bleuâtres qui se déposent au fond du vase ; le liquide reste transparent. Sur pomme de terre, il se produit une culture blanchâtre, transparente.

Le microbe de ces cultures est mobile et peut former une spore à une extrémité qui se renfle à ce moment. Il se colore bien aux couleurs d'aniline et reste coloré par la méthode de Gram.

Les cultures tuent rapidement les jeunes chiens ; on retrouve le microbe dans les poumons, le cerveau et la moelle. Elles ne causent rien aux cobayes et aux lapins, ou tout au plus un petit abcès au point d'inoculation chez ces derniers.

Jess (1) décrit un petit Bacille de 1,8 à 2,3 μ de long sur 0,6 à 0,9 μ de large, qui se rencontre en abondance dans le mucus nasal et conjonctival, dans le sang et tous les organes. Il se colore bien à la fuchsine phéniquée, plus fortement aux deux pôles, et reste coloré par la méthode de Gram.

On isole facilement ce microbe en mettant en culture la sécrétion nasale.

En *cultures sur plaques de gélatine*, il donne de petites colonies fusiformes, à centre sombre, qui ne liquéfient pas.

Sur *gélose*, à 37°, le développement se fait abondamment sous forme d'un revêtement grisâtre, mat, à bords nets ; la gélose glycérinée paraît moins favorable.

Sur *gélatine*, la culture est la même que sur gélose.

Sur *sérum* coagulé, la colonie est brunâtre et ne se développe que lentement.

Sur *pomme de terre*, en quarante-huit heures il s'est développé une couche blanche, veloutée.

Le *bouillon* se trouble et montre un rebord filamenteux à la partie supérieure.

L'injection sous-cutanée de bouillon de culture détermine chez les jeunes chiens une affection semblable à la maladie dite spontanée.

BACILLES DANS LA MALARIA.

L'opinion que l'intoxication palustre est due à la pénétration d'organismes dans le sang est ancienne. Les soupçons se portaient, mais sans preuve, sur les êtres inférieurs, Algues surtout, qui se développaient en abondance dans les régions marécageuses, où règne la fièvre intermittente.

Lemaire (2) a été un des premiers à incriminer les Bactéries, sans rien préciser cependant. Plus tard, Klebs et Tommasi Crudeli (3) ont retiré de la vase de régions où l'affection est endémique des Bacilles qu'ils ont considérés comme les véritables agents spécifiques. Ce sont des bâtonnets longs de 2 μ à 7 μ, pouvant même, dans certaines conditions, croître en filaments onduleux. Les filaments se segmentent,

(1) Jess, Der Bacillus der Hundestaupe (Febris catarrhalis epizootica canum) (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 541).

(2) Lemaire, *C. R. de l'Acad. des sc.*, LIV, 1864, p. 317.

(3) Klebs et Tommasi Crudeli, *Arch. für exper. Path.*, XI, 1879.

et dans chacun des articles formés se développe une spore, au milieu ou à une extrémité. L'inoculation de produit de culture à des lapins déterminait, d'après Klebs, un véritable état fébrile. Rien de caractéristique toutefois; de plus, il fallait injecter des quantités de matières relativement considérables, et enfin, il y avait toutes probabilités pour que les cultures employées ne fussent pas pures.

Ceci (1), Cuboni et Marchiafava (2) ont annoncé des résultats analogues; ces derniers auraient trouvé des Bactéries voisines d'aspect de celles décrites par Klebs et Tommasi Crudeli, dans le sang des malades atteints de fièvre intermittente, au début des accès. D'après Golgi (3) et beaucoup d'autres, ces Bacilles n'auraient rien à voir avec l'infection malarienne.



Fig. 298.



Fig. 299.

Les recherches de Laveran (4) ont fait entrer la question dans une tout autre voie, que des travaux plus récents ont montrée être la bonne. Il a reconnu, dans le sang, la présence constante d'organismes inférieurs qu'il est toutefois nécessaire de distinguer des Bactéries. Leurs caractères, bien précisés du reste, conduisent à les ranger dans le voisinage des Grégarines, des Coccidies, Protozoaires pour lesquels a été établi le groupe des *Sporozoaires*. Laveran a rencontré le parasite dans le sang sous quatre formes qui, d'après lui, représentent autant de phases de l'évolution d'une seule et même espèce. Ce sont d'abord des éléments allongés, mesurant de 8 μ à 9 μ, souvent en forme de croissant, rappelant la phase de *corps falciformes*, si fréquente chez les Sporozoaires (fig. 298); Laveran les désigne sous le nom de *corps en croissant*; ils sont d'ordinaire immobiles, ou doués seulement d'un mouvement lent. Les *corps sphériques* sont de petites sphères transparentes, de taille minime au début et atteignant 7 μ de longueur en moyenne, dans l'intérieur desquelles se trouvent des granulations pigmentaires souvent disposées en cercle (fig. 299). A la périphérie de ces éléments, se produisent des filaments radiaires très fins, transparents, animés de mouvements rapides, les *flagella* (fig. 300); ils sont d'habitude au nombre de trois ou quatre par corpuscule et atteignent une longueur égale à trois ou quatre fois le diamètre d'un globule rouge. Ces filaments, qui sont disposés régulièrement autour de la masse centrale (B) ou d'un seul côté (B'), ont leur extrémité renflée en un petit bouton. Ils peuvent se détacher et se mouvoir libre-

(1) Ceci, *Arch. für exper. Path.*, XV et XVI, 1882.
(2) Cuboni et Marchiafava, *Ibid.*, XIII, 1881.
(3) Golgi, *Arch. per sc. med.*, vol. XIII, n° 5, 1890.
(4) Laveran, Nature parasitaire des accidents de l'impaludisme, 1881. — Traité des fièvres palustres. Paris, 1884. Et surtout : Du paludisme et de son Hématozoaire. Paris, G. Masson, 1891.

ment dans le sang. Ces formations correspondraient peut-être à la phase de *pseudo-filaire* décrite chez plusieurs Grégarines. Il n'a pas été possible à Laveran de rattacher ces trois stades les uns aux autres.

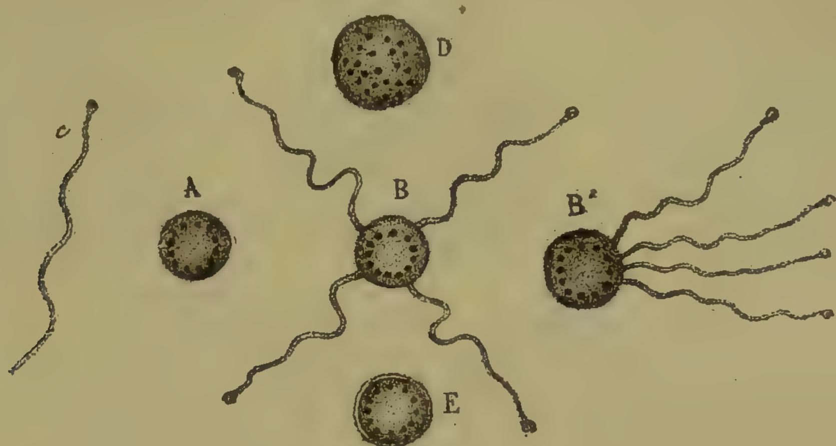


Fig. 300.

Richard (1) et Marchiafava et Celli (2) ont obtenu des résultats en tout analogues à ceux annoncés par Laveran. Ces derniers observateurs ont surtout observé et décrit avec détails une forme qui correspond certainement à la première période des corps sphériques de Laveran. Ce sont des cellules nues, présentant des mouvements amœbiformes, qu'ils ont rencontrées dans le sang, libres dans le liquide ou contenues dans les globules rouges, peut-être simplement adhérentes à leur surface (fig. 301). Ils leur ont appliqué la désignation impropre de *plasmodies*, qui sert à désigner une forme d'évolution spéciale à des Champignons inférieurs; le nom de *corps amœbiformes* est certainement préférable.

On trouve, en outre, plus rarement dans le sang, à côté des corps sphériques, des éléments sphériques, pigmentés au centre et régulièrement segmentés, nommés par Laveran *corps en rosace*, qui proviendraient des corps sphériques par bourgeonnement ou division. Ces corps, qui ont parfois l'apparence d'une rosace régulière, seraient aussi un des modes de multiplication de l'Hématozoaire. Chaque segment de la rosace, d'après Golgi, pourrait produire un petit corps amœboïde.

Ces corps en rosace auraient une forme différente dans les variétés de l'infection malarique. Dans la fièvre quarte, on rencontrerait des rosaces contenant de six à douze segments; dans la fièvre tierce, des rosaces de quinze à vingt segments.

D'après les recherches récentes (3), il faudrait considérer les flagella

(1) Richard, Sur les microorganismes de la fièvre palustre (*C. R. de l'Acad. des sc*, 1882, nº 8).

(2) Marchiafava et Celli, Neue Untersuchungen über die Malariainfection (*Fortschr. der Med.*, 1885).

(3) Labbé, Recherches zoologiques, cytologiques et biologiques sur les Coccidies (*Arch. de zool. expér.* IV, 1896). — Simonds, L'évolution des Sporozoaires du genre *Coccidium* (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XI, 1897, p. 545). — Siedlecki, Étude cytologique et cycle évolutif de la Coccidie de la Seiche (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 799). — R. Koch, Ueber die Entwickelung der Malariaparasiten (*Zeitschr. für Hygiene*, XXXII, 1899, p. 1).

comme les éléments mâles du parasite. Ils serviraient à féconder les éléments femelles représentés par des cellules amœboïdes provenant soit des corps falciformes, soit des segments des rosaces.



Fig. 301. — Corps amœbiformes de l'infection palustre dans l'intérieur des globules rouges (d'après Marchiafava et Celli).

Grassi (1) a démontré que l'agent actif de la dissémination du contage malarique était le Moustique et tout particulièrement une espèce de Moustique très commune dans les contrées paludiques de l'Italie, l'*Anopheles claviger*. Ce Moustique, piquant un paludique, absorbe des corps en croissant qui se transforment en corps sphériques dans son estomac. Certains de ces corps sphériques restent intacts, ce sont des éléments femelles; d'autres donnent des flagella. La fécondation se fait par fusion de ces deux sortes d'éléments. L'œuf fécondé, toujours amœboïde, pénètre dans la paroi stomacale et donne un kyste sphérique qui peut atteindre 60 à 80 μ de diamètre. Dans l'intérieur de ce kyste, se forme un très grand nombre de petits sporozoïtes fusiformes qui se répandent dans le corps après rupture de la paroi. A un moment donné, pour un motif d'élection inconnu, ils se rassemblent dans les glandes salivaires de l'Insecte et, de là, peuvent facilement revenir dans l'homme à la suite d'une piqûre, l'Insecte déversant toujours, en même temps qu'il pique, une petite quantité de salive pour empêcher que le sang ne se coagule. L'*Hématozoaire de Laveran* est donc un parasite à deux hôtes alternatifs, l'homme et le Moustique.

Il semble donc bien qu'on ait incriminé à tort l'eau de boisson dans la

(1) Grassi, Coltivazione della semilune malariche dell' uomo nell' Anopheles claviger (*Acc. dei Lincei*, 1898). — Grassi, Bignami et Bastianelli, Ulteriori ricerche sul ciclo dei parassite malarici humani nel corpo del zanzarone (*Acc. dei Lincei*, décembre 1898).

transmission de l'infection malarique. La prophylaxie doit surtout porter sur la destruction des Moustiques ou la préservation de leur piqûre (1).

Comme leurs larves ne peuvent vivre que dans l'eau stagnante, c'est de ce côté que l'on doit se tourner; l'expérience a démontré qu'un excellent moyen pour les tuer, lorsqu'il était applicable, était de verser une très petite quantité d'huile de pétrole à la surface de l'eau. Il est important de ne pas s'exposer à leurs piqûres ; l'Insecte ne pique guère qu'au coucher du soleil et ne s'élève qu'à quelques mètres au-dessus du sol. A l'aide de toiles métalliques fines fermant les ouvertures, on peut l'empêcher d'entrer dans les habitations.

Pour rechercher ces parasites dans le sang, on examine du sang frais obtenu par piqûre du doigt, chez un malade non soumis à la quinine, ou mieux au début d'un accès. Il est bon de luter la préparation à la paraffine pour supprimer les courants dus à l'évaporation. Les grains noirs de pigment que contiennent beaucoup de ces formes servent d'utiles points de repère. On peut déceler rapidement les corps en croissant en ajoutant de l'eau qui détruit les globules rouges. On obtient de belles préparations en desséchant le sang à une chaleur modérée, fixant à un mélange à parties égales d'alcool absolu et d'éther, mettant la préparation dans un bain d'éosine pendant trente secondes, lavant à l'eau distillée et la faisant passer pendant un temps égal dans une solution aqueuse concentrée de bleu de méthylène ou mieux une solution dans la solution physiologique de sel. Les Hématozoaires prennent une belle teinte bleue, comme les noyaux que peuvent renfermer les éléments de la préparation. On sèche et on monte au baume.

L'inoculation, à des individus sains, du sang de malades, a déterminé plusieurs fois des accès fébriles intermittents. Marchiafava (2) a constaté, dans le sang des sujets qui s'étaient soumis à l'expérience, la présence de ces corps amœbiformes.

Grassi a pu déterminer l'infection malarique typique en faisant piquer des individus sains, habitant des lieux indemnes, par des Anophèles qu'il avait infectés antérieurement en les faisant piquer des paludiques.

BACILLES DANS LES MALADIES DES PLANTES.

L'étude de la pathologie végétale microbienne n'est encore qu'ébauchée, peut-être, comme le dit Vuillemin (3), parce que, chez les plantes, l'action des microbes doit être certainement reléguée au second plan par l'importance du parasitisme des Champignons proprement dits.

La plupart des maladies des plantes paraissent être causées par des moisissures dont le développement est relativement lent. Beaucoup de ces êtres, certainement, vivent d'ordinaire en simples saprophytes aux dépens des plantes mortes. Puis, à un moment donné, elles deviennent

(1) Celli et Cazagrandi, Per la distruzione delle zanzare (*Societa per gli studi della malaria*, 1899).

(2) Marchiafava, *Fortschr. der Med.*, 1884.

(3) Vuillemin, Les maladies microbiennes des plantes (*Revue gén. des sc.*, 15 décembre 1890).

parasites, gagnent de la virulence à un tel point qu'elles peuvent occasionner des manifestations véritablement épidémiques; ainsi par exemple le *Botrytis cinerea.*

Les lésions connues, qui paraissent bien nettement être sous la dépendance d'une infection bactérienne, peuvent se ranger sous plusieurs types distincts (1).

Dans un premier, ce qui s'observe ce sont des phénomènes de nécrose, se traduisant par des tavelures, des pourritures.

Ces pourritures, sèches ou humides, peuvent fort bien, il est nécessaire de le dire de suite, être occasionnées par des Bactéries non spécifiques, espèces banales, se trouvant communément dans le milieu extérieur, n'attaquant la plante que par occasion; c'est ce que l'on observe avec le *Colibacille*, fréquent dans ces conditions (2), le *Bacillus fluorescens liquefaciens*, le *Proteus vulgaris*, le *Bacille pyocyanique*, des anaérobies, entre autres le *Bacillus amylobacter* et d'autres *ferments butyriques.* Ou bien, elles paraissent être déterminées par des espèces spéciales, qui se sont peut-être adaptées exclusivement ou presque à la vie parasitaire végétale. Ce sont de ces dernières seules que nous allons nous occuper.

Sorauer (3) a, le premier, signalé la présence de Bactéries dans la maladie désignée sous le nom de *morve des oignons* et les regarde comme la cause des altérations.

Wakker (4) et Heintz (5) ont appelé *Bacillus hyacinthi* une espèce qui détermine le ramollissement des oignons de jacinthe. Ce sont des bâtonnets de 4 à 6 μ de long sur 1 μ de large, très mobiles, se cultivant bien. Les cultures pourraient reproduire la maladie sur les bulbes de jacinthe et d'ail.

Les céréales sont souvent attaquées. Prillieux (6) a décrit une altération des grains de blé par un microbe qui paraît être le *Bacillus prodigiosus.* Le sorgho est fréquemment atteint d'une maladie bactérienne, la *brûlure.* D'après Burrill (7), elle serait occasionnée par le *Bacillus sorghi*, Bacille de 1,5 à 4 μ de long sur 0,5 à 1,3 μ de large, donnant des spores ovales longues de 1 à 1,7 μ et larges de 0,6 à 0,9 μ.

Bruyning (8) la rapporte à un Bacille chromogène qu'il nomme *Bacillus ruber ovatus*, à éléments courts de 0,9 à 1,2 μ de long sur 0,7 à 0,8 μ de large, peu mobiles, ne donnant pas de spores. Il se cultive sur tous les milieux à la température ordinaire.

Sur gélatine, il donne une petite colonie d'un rouge jaunâtre pâle, ne liquéfiant jamais. Sur pomme de terre, en quatre jours, une colonie

(1) Vuillemin, Consid. gén. sur les mal. des végétaux (*Traité de path. gén. de* Bouchard, t. I).

(2) Laurent, Recherches expérimentales sur les maladies des plantes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 1).

(3) Sorauer, Die Rotzkrankheit (Bacteriosis) der Pflanzen (*Allgem. Brauer-und Hopfenzeitung*, 1884).

(4) Vakker, Contribution à la pathol. végétale (*Arch. néerl.*, XXIII, 1888).

(5) Heintz, Zur Kenntniss der Rotzkrankheiten der Pflanzen (*Centralbl. für Bakt.*, V, 1889).

(6) Prillieux, Corrosion de grains de blé colorés en rose par des Bactéries (*Bull. de la Soc. bot.*, 1874, p. 31).

(7) Burrill, Sorghum blight (*Rep. of bot. Depart. of the Kansas exp. Stat.*, 1888).

(8) Bruyning, La brûlure du sorgho et les Bactéries qui la provoquent (*Arch. néerl. eps sc. exact. et nat.*, série 2, t. I).

assez étendue, rouge-vermillon ou rouge-corail. Dans le bouillon, un léger trouble avec sédiment incolore.

Les cultures n'ont pas d'odeur. On peut y constater des traces d'alcool, d'acide acétique, d'acide lactique et d'indol; pas d'ammoniaque ni d'hydrogène sulfuré.

A côté du Bacille, Bruyning trouve un coccus, *Micrococcus aurantiacus sorghi*, qui donne sur pomme de terre une belle culture jaune d'or et ne liquéfie pas la gélatine.

Les deux espèces concourraient à produire l'altération des tissus de la plante.

Burrill nomme *Bacillus secales* un Bacille qui attaquerait le maïs.

Burrill (1) a décrit, dès 1880, une pourriture des pommes et des poires d'origine bactérienne. Le microbe qui la cause serait le *Bacillus amylivorus*, à éléments mobiles, de 1 à 1,25 μ de long sur 0,5 à 0,75 μ de large, se cultivant facilement sur gélatine sans la liquéfier.

Erwin Smith (2) donne le *Bacillus bracteiphilus* comme l'agent de la flétrissure de diverses Cucurbitacées. Ce sont des bâtonnets de 1,2 à 2,5 μ de long sur 0,5 à 0,7 μ de large, bien mobiles, se cultivant facilement sur les milieux ordinaires, ne liquéfiant pas la gélatine.

D'après le même (3), le *Bacillus Solanacearum* attaquerait les tomates, les aubergines et les pommes de terre.

Le *Bacillus campestris* (*Pseudomonas campestris*) serait, d'après Pammel (4) et Smith (5), la cause la plus fréquente de la pourriture de beaucoup de Crucifères, choux, navets, raves, particulièrement.

Les pommes de terre sont très sujettes à la pourriture. L'altération est due soit à des Mucédinées diverses, soit à plusieurs espèces de Bactéries (6). Parmi ces dernières, se trouvent des saprophytes ordinaires ou des espèces paraissant plus spéciales, comme le *Micrococcus phytophtorus* de Frank.

Dans un second type, l'altération porte sur les membranes cellulosiques qui se transforment en matière gommeuse ou mucilagineuse, d'où le nom de *gommose bacillaire*. La maladie de la *gomme*, très fréquente chez beaucoup de plantes, est le plus habituellement causée par des Mucédinées, l'*Endomyces Magnusii* particulièrement, ou des Levures, le *Saccharomyces Ludwigii* principalement (7). Elle peut aussi être due à des Bactéries; nous avons vu qu'on pouvait y rencontrer un *Leuconostoc* (p. 475) jouant probablement un rôle actif. D'autres affections

(1) Burrill, *Americ. Natur.*, VII, 1893, p. 319. — Arthur, History and Biology of Pearblight (*Proc. of the Philadelphia Acad. of nat. sc.*, septembre 1886).

(2) Erwin Smith, Die Ursache der Verwelkens verschiedener Cucurbitacien (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., I, 1895, p. 364).

(3) Erwin Smith, A bacterial disease of the Tomato, Eggplant and Irish Potato (*Depart. of agric. Divis. of veget. Phys. Bulletin*, n° 12, 1896).

(4) Pammel, Bacteriosis of Rutabaga (*Iowa agric. exper. stat.*, 1895).

(5) Erwin Smith, Pseudomonas campestris. The cause of a brown rot in cruciferous Plants (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., III, 1897, p. 284, 408 et 478).

(6) Roze, Sur les Bactériacées de la pomme de terre (*Bull. de la Soc. mycol. de France*, 1896, p. 55. Et *C. R. de l'Acad. des sc.*, CXXII, p. 750, et CXXIII, p. 613 et 1323). — Wehmer, Untersuchungen über Kartoffelkrankheiten (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., V, 1899). — Frank, Die Bakterienkrankheiten der Kartoffeln (*Ibid.*).

(7) Ludwig, Die Genossenschaften der Baumflussorganismen (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., II, 1896, p. 337).

du même ordre paraissent être exclusivement d'origine bactérienne.

La *gommose bacillaire de la vigne*, *mal noir*, serait due, d'après Baccharini (1) et Macchiati (2), à un Bacille que ce dernier dénomme *Bacillus Baccharinii.*

Dans les tissus malades, la Bactérie est en bâtonnets courts de 1 à 2 μ de long sur 0,75 μ de large, à extrémités arrondies, peu mobiles, isolés, par couples ou en chaînettes. La formation de spores est douteuse. Ils se colorent légèrement aux solutions habituelles et restent un peu colorés par la méthode de Gram.

Sur gélatine, le microbe donne une colonie blanchâtre qui liquéfie lentement ; dans les vieilles cultures, la gelée brunit un peu et devient fluorescente.

Sur gélose, il forme une colonie muqueuse, d'un jaune ambré.

Sur pomme de terre, une colonie gélatineuse, d'un jaune brillant. La Bactérie attaque l'amidon des couches supérieures et le transforme en un produit visqueux.

Le lait est coagulé et le coagulum lentement dissous. Le liquide, alcalin au début, devient acide.

La *gommose des betteraves* serait aussi d'origine bacillaire et pourrait être due à plusieurs espèces de Bacilles (3).

Dans un troisième type, l'action parasitaire microbienne détermine une réaction locale de la part de la plante envahie ; il se forme des proliférations cellulaires anormales ou des transformations pathologiques des éléments existants. D'où des modifications de forme du corps de la plante attaquée, dont l'expression la plus complète est la formation de véritables *tumeurs végétales.*

La *tuberculose de l'olivier* (4) est une de ces maladies. Les Bactéries qui la déterminent, *Bacillus oleæ*, détruisent les éléments au contact desquels elles arrivent ; mais, à la suite de l'irritation, les cellules voisines se multiplient pour dégénérer plus tard sous l'influence du microbe. Il se forme ainsi des tumeurs ou tubercules dont le centre, envahi par le parasite, se ramollit et se transforme en mucilage.

Ce processus de formation de tumeur est plus net encore dans une *maladie du pin d'Alep*, causée par un Bacille qu'a découvert Vuillemin (5). Le Bacille introduit sous l'écorce, probablement par le suçoir ou l'oviducte de quelque insecte piqueur, se développe, forme entre les éléments des tissus des zooglées de plus en plus grosses. Les cellules voisines, sous l'influence de l'irritation, reviennent à l'état embryonnaire et prolifèrent rapidement. Il se forme alors une tumeur qui grossit de plus en plus et peut atteindre, avec le temps, de grandes dimensions.

(1) Baccharini, Sul mal nero della vite in Sicilia (*Malpighia*, VI, 1892).

(2) Macchiati, Ueber die Biologie des Bacillus Baccharinii (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., IV, 1898, p. 332).

(3) Busse, Bakteriologische Studien über die Gummosis der Zuckerrüben (*Zeitschr. für Pflanzenkrankh.*, VII, 1897, p. 65 et 149).

(4) Savastano, Il Bacillo della tuberculosi de l'Olivo (*Acc. dei Lincei*, 1889). — Prillieux, Bacilles des tumeurs de l'olivier (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CVIII, 1889, p. 249).

(5) Vuillemin, Sur une bactériocécidie ou tumeur bacillaire du pin d'Alep (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 26 novembre 1888). Et : Sur les relations des Bacilles du pin d'Alep avec les tissus vivants (*Ibid.*, 31 décembre 1888).

Dans cette tumeur, se rencontrent des zooglées de Bacilles immobiles de 1,8 μ à 2,5 μ de long sur 0,6 μ à 0,8 μ de large, se colorant faiblement aux couleurs d'aniline. Tant que les cellules sont vivantes, les Bacilles ne pénètrent pas à leur intérieur; l'action spécifique doit donc s'exercer par des produits solubles diffusant à travers la paroi cellulosique. Le contenu des cellules mortes sert probablement d'aliment au microbe.

C'est dans ce type que l'on doit classer la maladie observée par Vuillemin (1) chez le *Tricholoma terreum*, Champignon comestible. Les Bactéries, qui attaquent les tissus du chapeau, produisent une déformation complète de cet organe.

Ces quelques données peuvent faire entrevoir l'importance du rôle pathologique qui doit être attribué aux Bactéries dans la vie des plantes. Jusqu'ici, cette étude a été un peu négligée et ce qui a été fait est surtout une simple étude de morphologie; on a presque complètement omis le côté physiologique de la question et tout particulièrement les recherches qui peuvent renseigner sur la virulence, la production de toxine, les moyens d'augmenter la résistance des plantes attaquées, la question si importante d'immunité, la vaccination. Comme ce sont là, bien certainement, des processus biologiques généraux, communs à tous les éléments vivants, il n'y a aucun doute pour qu'on ne doive pas bénéficier à l'égard des plantes des mêmes particularités qui donnent de bons résultats chez les animaux.

ESPÈCES CHROMOGÈNES.

BACILLUS SYNCYANUS Ehrenberg.

(*Bacille du lait bleu.*)

Atlas de microbiologie, pl. XXVII.

La coloration bleue du lait est fréquente. Comme elle se propage par contagion, qu'elle apparaît en quelque sorte épidémiquement dans les étables, on l'a longtemps mise sur le compte des circonstances climatériques ou de vices de l'alimentation des vaches laitières.

Ehrenberg (2) en a donné comme cause le développement, dans le lait, d'une Bactérie qu'il a nommée *Vibrio syncyanus*, retrouvée un peu plus tard par Fuchs (3) qui l'appelle *Vibrio cyanogenus*; c'est la désignation d'Ehrenberg, la plus ancienne, qui doit être conservée. Depuis, de nombreux observateurs se sont occupés de ce phénomène intéressant; c'est surtout à Nuelsen (4), à Hüppe (5) et à Heim (6) que l'on

(1) Vuillemin, Sur une maladie mycobactérienne du *Tricholoma terreum* (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 5 novembre 1894, p. 811).

(2) Ehrenberg, Die Infusionsthierchen als volkommene Organismen, 1838.

(3) Fuchs, Zur Kenntniss der gesunden und fehlerhaften Milch der Hausthiere (*Magazin für die ges. Thierheilk.*, VII, 1841).

(4) Nuelsen, Studien über die blaue Milch (*Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, III, 2e p., 1880).

(5) Hüppe, Untersuch. über die Zersetzungen der Milch durch Microorganismen (*Milth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, 1884, p. 355).

(6) Heim, Versuche über blaue Milch (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, V, 1890, p. 518).

doit des détails précis sur la morphologie et la biologie de l'espèce qui le cause.

D'après J. Reiset (1), la coloration apparaît très vite sur le lait tiré et mis en terrines. Il se forme, à la surface, de larges taches bleues; au fur et à mesure que la crème monte, la coloration augmente ; c'est surtout cette couche supérieure qui se colore. La crème peut être fortement bleue. Le beurre qu'on en obtient est de couleur verdâtre et possède une odeur butyrique forte et désagréable.



Fig. 302. — *Bacille du lait bleu.*

1, bâtonnets libres dans le lait ; 2, bâtonnets avec auréole gélifiée ; 3, bâtonnets sporifères ; 4, formes d'involution (d'après Nuelsen). 650/1.

Morphologie. — Caractères microscopiques. — Les éléments du *Bacillus syncyanus* du lait sont des bâtonnets lentement mobiles, dont la longueur varie de 2 μ à 4 μ, pour une épaisseur de 0,5 μ ; les extrémités sont arrondies (fig. 302, *1*). Lorsqu'ils forment de petites zooglées muqueuses, on peut leur reconnaître une auréole hyaline, sorte de capsule de gelée (fig. 302, *2*). La formation de spores s'observe facilement à la température ordinaire. Les spores sont ovoïdes, un peu plus grosses que les bâtonnets, qui se renflent à l'endroit où elles se produisent. C'est d'habitude à une extrémité : le bâtonnet prend alors une forme en massue ; c'est parfois au milieu : il devient fusiforme (fig. 302, *3*).

(1) J. Reiset, Observations sur le lait bleu (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCVI, 1883 p. 682).

Dans les cultures sur milieux liquides, il se produit souvent des formes d'involution bizarres. La figure 302, *4*, représente de ces aspects curieux, éléments gonflés en ballons, rubanés, sinueux, que Nuelsen a observés dans la *solution de Cohn*, à laquelle il ajoutait un peu de nitrate de potasse; Hüppe en a obtenu de tout semblables dans les solutions de tartrate d'ammoniaque.

Coloration. — Le microbe se colore facilement aux couleurs d'aniline et *reste coloré* par la méthode de Gram. Les méthodes spéciales décèlent de deux à cinq cils à une extrémité des bâtonnets.

Cultures. — Les cultures s'obtiennent facilement sur les milieux ordinaires; le microbe est exclusivement aérobie. Il croît bien aux températures ordinaires et moins bien déjà vers 30°; à 40°, les cultures meurent souvent. Les milieux donnent bientôt une réaction alcaline, même ceux qui sont acides. La production de pigment paraît dépendre, du moins dans de certaines limites, des aliments que l'espèce a à sa disposition; elle n'en forme pas dans des conditions spéciales. La nuance de la coloration peut varier; elle est tantôt d'un bleu bien franc, tantôt légèrement violette. Il se peut même que ce microbe, dans des conditions peu déterminées encore, perde le pouvoir de produire du pigment et donne des séries de cultures incolores (1). C'est un fait qui a été observé, du reste, pour bien des Bactéries chromogènes. Il doit être possible, dans ces conditions, en faisant vivre cette Bactérie dans des conditions éminemment favorables, de la voir récupérer sa puissance chromogène.

Cultures sur plaques de gélatine. — On remarque, en deux jours, de petites colonies blanchâtres, arrondies, granuleuses, qui s'étalent à la surface en petites gouttelettes muqueuses. La gelée prend une teinte gris bleu; elle n'est pas liquéfiée.

Ces Bactéries croissent mieux sur la gélatine acide que sur celle à réaction alcaline faible. La meilleure gelée est celle que l'on additionne de faibles proportions (0,2 à 0,3 p. 100) d'acide lactique.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* dans un tube de gélatine, il se forme dans le canal une mince culture blanchâtre, et à la surface un petit disque blanc; la gelée se colore en bleu verdâtre qui brunit avec l'âge. En *strie*, il se développe, le long du sillon, de petites colonies blanches, autour desquelles la gelée prend une teinte verdâtre qui peut passer au gris bleu. Dans ces cultures sur gélatine, les éléments pris au milieu sont beaucoup plus petits que ceux des bords; les premiers peuvent ne mesurer que 1 μ à 1,4 μ, les autres ont de 2,3 μ à 3,5 μ; la largeur est à peu près semblable, de 0,4 μ à 0,5 μ.

Cultures sur gélose. — La culture sur gélose donne une couche grise; la partie supérieure du milieu est teinte en brun.

Cultures sur pomme de terre. — Sur pomme de terre, le long des stries d'inoculation, il se produit une bande ou une série de taches jaunâtres; la substance du tubercule se colore profondément en gris bleu.

Cultures dans le bouillon. — Le liquide se trouble fortement et

(1) Behr, Ueber eine nicht farbstoffbildende Race des Bacillus der blauen Milch (*Centralbl. für Bakt.*, VIII, 1890, p. 485).

prend une teinte verdâtre; il se forme un dépôt épais d'un blanc sale.

Cultures dans le lait. — Cette Bactérie ne détermine ni coagulation, ni formation d'acide, mais avec l'âge on y perçoit une faible réaction alcaline. La coloration bleuâtre, terne, apparaît à la surface, par taches, puis s'étend à toute la couche superficielle. Lorsque le lait a été stérilisé, la teinte bleue ne se communique pas au liquide, qui est simplement un peu grisâtre dans sa partie supérieure. Dans du lait ordinaire, au contraire, toute la masse devient rapidement d'un beau bleu de ciel. Le fait est dû à l'acidité de ce dernier liquide, causée par le développement simultané d'autres Bactéries, en particulier le *Bacillus lacticus*; on peut du reste le provoquer en ajoutant des traces d'acide lactique.

Cultures dans les solutions minérales. — Hüppe recommande, comme milieu de culture, les solutions minérales à base de tartrate d'ammoniaque. Lorsqu'on ensemence un de ces liquides, il se produit très vite, dans toute la masse, un trouble floconneux diffus. Puis, à la surface, il se forme une mince pellicule blanche et le liquide prend une teinte bleuâtre. Il apparaît alors sous le voile une coloration verte, qui envahit tout le liquide en quatorze jours; la membrane elle-même devient gris vert; elle se désagrège par sa face interne, ses débris viennent constituer au fond du vase un dépôt blanc sale. La nuance verte du liquide tourne plus tard au jaune : la réaction est nettement alcaline. Le vert peut passer au bleu par oxydation ou par addition d'un peu d'acide lactique.

Dans les solutions simples de sucre, de peptones, de glycérine, d'urée, on ne remarque pas de coloration. Elle apparaît dès qu'on ajoute du tartrate d'ammoniaque. Cette propriété de sécréter du pigment ne semble pas diminuer par les cultures successives, comme cela a lieu pour nombre d'espèces chromogènes. Elle reste aussi prononcée après un grand nombre de générations et dans des cultures très anciennes. L'optimum de température pour la formation de la matière colorante est de 15° à 18°; elle est déjà retardée à 25° et ne se fait plus à 37 degrés.

Propriétés biologiques. — Vitalité. — Le microbe résiste peu à la chaleur; une température de 60° le tue en quelques minutes. Aussi doit-on se demander si les formations décrites comme spores doivent réellement être considérées comme telles. Il supporte toutefois longtemps la dessiccation.

Produits formés dans les cultures. — Il ne se forme pas de gaz; par contre, beaucoup d'ammoniaque et des traces d'indol.

Pigment. — Le pigment n'a pas encore pu être obtenu à l'état pur. Il paraît légèrement soluble dans l'eau acidulée, insoluble dans l'eau, l'alcool, l'éther. Il se dissout également un peu dans la glycérine. Il se décompose très vite; les solutions pâlissent rapidement à la lumière, un peu plus lentement à l'obscurité. Traitée par les acides organiques ou les acides minéraux étendus, la solution ne change pas de nuance; par l'ammoniaque, elle devient violette; par la potasse et la soude, d'un rouge rose; la nuance bleue est régénérée par les acides. Lorsqu'on la traite par la potasse et qu'on l'abandonne quelque temps, de douze à vingt-quatre heures, de rouge rose elle devient rouge-brique, en offrant une fluorescence peu marquée; la couleur ne devient plus

bleue par les acides, mais jaunit et se décolore peu à peu. Au spectroscope, la solution bleue donne une bande d'absorption épaisse dans le jaune, sur la ligne D de Frauenhofer. Ces réactions ont été en partie déjà signalées par Braconnot (1).

A côté du pigment bleu caractéristique, ce Bacille produit en outre une autre matière colorante qui donne aux milieux une fluorescence verdâtre.

Habitat et rôle dans la nature. — On n'a pas encore rencontré cette espèce en dehors du lait qu'elle modifie. Elle doit se conserver dans le milieu extérieur, terre, poussières ou eau. Elle semble inoffensive pour l'homme et les animaux. Hüppe a nourri de nombreux animaux avec des aliments mélangés de fortes proportions de cultures, sans observer aucun trouble. Les injections intraveineuses, à fortes doses, n'ont rien déterminé.

Pour empêcher la pullulation de la Bactérie dans le lait et s'opposer à son extension, Reiset recommande de laver soigneusement les vases à l'eau bouillante. D'après lui, le lait contaminé pourrait servir à la fabrication du beurre en y ajoutant au préalable $0^{gr},50$ d'acide acétique par litre.

Ce même microbe peut se développer dans le beurre et le fromage, qui présentent alors des taches bleues ou d'un bleu verdâtre où l'on retrouve en abondance les bâtonnets décrits.

Le Bacille isolé d'un lait bleu par Zangemeister (2) et décrit par lui sous le nom de *Bacillus cyaneo-fluorescens*, paraît n'être qu'une simple variété du *Bacillus syncyanus*. Il n'en diffère que par quelques minimes variations de forme, d'aspect des cultures et de production de pigment.

BACILLUS CYANEO-FUSCUS Beyerinck.

Beyerinck (3) l'a rencontrée fréquemment dans les liquides putréfiés, les eaux de fossés vaseux, la terre; elle serait la cause d'une altération spéciale des fromages de Hollande, connue sous le nom de *bleu*.

Les éléments sont de longueur variable suivant les conditions de vie. Dans les bouillons, ce sont de très petits bâtonnets de 0,3 à 0,6 μ de long sur 0,15 μ d'épaisseur; sur gélatine, l'épaisseur est de 0,2 μ 0,3 μ et la longueur assez grande; ce sont de très fins Bacilles. Leur mobilité est très nette.

Cette espèce est rigoureusement aérobie.

Elle s'isole facilement sur les plaques de gélatine; mais en été, à la température de la chambre, toute vitalité disparaît après quelques générations; on la conserve beaucoup plus longtemps aux basses températures, surtout dans les milieux liquides.

En piqûre dans la gélatine, vers 6°, la liquéfaction se produit vite; dans le liquide nagent des flocons brun noirâtre formés par les Bacilles; la gélatine prend une teinte bleue sur une faible étendue.

(1) Braconnot, *Journ. de chim. méd.*, II, 2e série, p. 625.

(2) Zangemeister, Kurse Mittheilungen über Bakterien der blauen Milch (*Centralbl. für Bakt.*, XVIII, 1895, p. 321).

(3) Beyerinck, Die Lebensgeschichte einer Pigmentbakterie (*Bot. Zeit.*, 1891). — *Id.*, La biologie d'une Bactérie pigmentaire (*Arch. néerl. des sc. nat.*, XXV, p. 227).

La matière colorante forme de petits sphéro-cristaux d'abord verdâtres, puis bleus, devenant enfin bruns par oxydation. Les aiguilles cristallines doivent être constituées par une substance protéique imprégnée de pigment.

BACILLUS POLYCHROMOGENES G. Thiry.

(*Bacille polychrome.*)

Atlas de microbiologie, pl. xxix.

C'est une espèce que j'ai rencontrée plusieurs fois (5 fois) dans des eaux de puits et des eaux de conduite. G. Thiry (1) l'étudie dans mon laboratoire depuis 1894 sans avoir réussi jusqu'ici à obtenir des variations héréditaires. Il a pu la retrouver dans une eau de puits avec les mêmes caractères deux ans après une première constatation. Aucun des individus isolés à divers moments n'a différé, ni en première culture ni dans les cultures suivantes ; nous ne connaissons donc pas de variétés naturelles.

Certainement, cette belle espèce pourra être observée dans d'autres circonstances et identifiée avec certitude. Elle se distingue par la propriété de produire facilement à la température ordinaire, sans intervention d'actions chimiques ou physiques spéciales, des couleurs variées. Sur les milieux habituels elle donne, mais avec une inégale fréquence, le bleu, le violet, le rouge, le vert, le jaune, les diverses nuances spectrales. Le pigment, très sensible aux acides et aux alcalis, présente des réactions chimiques et spectroscopiques particulières. En outre, sur les milieux solides s'observent souvent des amas de *formations cristallines* d'un beau bleu-indigo foncé, semblables de forme et d'aspect à l'indigo urinaire. S'agit-il du *Bacille lacmus* de Schroeter? C'est une question qui ne saurait être résolue à cause de l'insuffisance de la description donnée par cet auteur.

Morphologie. — Caractères microscopiques et coloration. — Généralement incolore, le *Bacille polychrome* est dans quelques cas coloré, en rouge ou en bleu. Tout le corps bacillaire est parfois uniformément coloré ; d'autres fois, seuls de petits grains intrabacillaires, irrégulièrement disposés, sont colorés en bleu foncé. La forme du Bacille est très variable. Il n'est pas de milieu, même de composition chimique définie (avec source d'azote autre que des peptones), où on obtienne à coup sûr une forme donnée, où la forme soit constante. C'est souvent un Bacille court à bouts arrondis ; d'autres fois les éléments sont sphériques ; parfois les formes sont longues et géantes à extrémités renflées, droites ou courbes. Les Bacilles sont tantôt isolés, tantôt groupés (diplobacilles, chaînettes) ; les formes sphériques sont également ou isolées ou groupées (diplocoques, chaînettes de huit éléments, tétrades, grappes), parfois encapsulées. Le plus souvent les cellules, colorées ou incolores, sont lentement mobiles, parfois tout à fait immobiles. Leur contenu est homogène et transparent ou bien granuleux avec grains de taille et de couleur diverses.

(1) G. Thiry, Sur une bactérie produisant plusieurs couleurs (B. polychrome) (*Soc. de Biol.*, 7 novembre 1896). Et : Contribution à l'étude du polychromisme bactérien (Bacille et Cladothrix polychromes) (*Arch. de phys.*, avril 1897, n° 2).

. Le Bacille se colore facilement aux méthodes ordinaires et *reste coloré* par la méthode de Gram et par celle de Claudius.

Cultures. — Cultures sur plaques de gélatine-peptone. — L'attention est attirée par la teinte verte des colonies, par la zone fortement colorée en vert foncé ou vert bleu qui les entoure, par leur énergique pouvoir liquéfiant et parfois, mais non toujours, par la présence, dans beaucoup d'entre elles, de grains bleu foncé ou bleu noir. Quand les colonies ont déjà liquéfié, par leur zone annulaire de liquéfaction elles ressemblent assez aux colonies formées par certains Bacilles fluorescents, mais la zone colorée par le pigment diffusé qui les entoure est d'un vert plus foncé; de plus, la fluorescence manque et il existe un dichroïsme rouge particulier.

Le développement des colonies superficielles est beaucoup plus précoce et plus marqué que celui des colonies profondes. Les colonies profondes sont globuleuses ou lenticulaires, grenues, jaune verdâtre, souvent avec stries d'accroissement concentriques. Les colonies superficielles plus colorées présentent des types divers : types étoilés, en rosace, en cocarde plissée, mûriformes, mamelonnés, mais les types discoïdes sont les plus fréquents.

Cultures sur gélatine-peptone en piqure. — Sur gélatine-peptone légèrement alcaline, il se forme rapidement une mince colonie transparente qui se développe surtout dans les parties les plus superficielles. Après quelques jours, la gélatine se colore autour de la colonie en vert-émeraude pur; cette coloration devient de plus en plus intense et graduellement envahit les trois quarts de la gélatine. Alors commence à se montrer un dichroïsme rouge qui ira en augmentant avec l'âge de la culture. En même temps la gélatine est liquéfiée; vers le quinzième jour, on a un large entonnoir de liquéfaction de forme variable. Le milieu liquéfié et trouble garde d'abord son intense couleur vert-pré, puis devient vert sale.

Finalement la coloration verte fait place à des teintes rougeâtres, brunâtres, feuille-morte ou rouille.

Dans d'autres cas le rouge, le bleu, le violet dominent ou s'observent seuls.

Cultures sur gélose-peptone. — L'aspect est très variable. Habituellement le Bacille forme une large bande gris bleu, souvent pointillée de bleu-indigo foncé, tandis que la gelée prend une belle teinte violette ou bleu violet.

Dans d'autres cas on a des cultures vertes.

Cultures sur sérum solidifié. — Le sérum de cheval est rapidement liquéfié; les teintes sont variables, le plus souvent sales et olivâtres; le sérum glucosé ou saccharosé est un excellent milieu, la liquéfaction est retardée. Le blanc d'œuf et la fibrine sont aussi rapidement liquéfiées.

Cultures sur pomme de terre. — Sur un milieu de réaction aussi peu uniforme et de composition aussi différente que les pommes de terre, le *Bacille polychrome* colore le substrat diversement en donnant également des colonies de coloration variée. Assez souvent cependant la pomme de terre cuite devient bleu-indigo foncé dans toute sa masse, avec colonie gris bleu, jaunâtre, verdâtre ou marron. Quand les pommes de terre sont fortement alcalines, la colonie est épaisse et jaune, parfois

jaune vif, mais le milieu ne se colore pas. Il est presque de règle sur pommes de terre sodées (c'est-à-dire trempées dans une solution de 0gr,5 p. 100 de soude, selon leur épaisseur cinq à vingt-quatre heures, pour les alcaliniser légèrement) d'obtenir cette belle coloration bleu-indigo foncé parfois presque noir (Chamot).

Avec l'âge, la pomme de terre se décolore lentement en passant par une teinte rouille. Cette décoloration semble débuter dans les parties profondes soustraites à l'action de l'air. A ce moment, coupés en petits morceaux, étalés et séchés en grande surface, les fragments foncent de couleur, et présentent un curieux bleuissement à l'air. Secs, ils peuvent se conserver bleu foncé plus d'une année.

Cultures sur empois-peptone. — Sur empois de fécule assez consistant peptonisé à 2 p. 100 et légèrement alcalinisé, on obtient des colonies bleu pur ou bleu violet avec coloration de toute la masse en bleu ou en violet.

Cultures sur artichaut. — Il s'y produit un verdissement rapide.

Cultures sur bouillon-peptone et solutions de peptone. — Le liquide se trouble uniformément ; il ne se colore jamais. Exceptionnellement, on observe un très léger anneau violet adhérent au tube près de la surface du liquide ; mais il ne se forme jamais de voile coloré.

Cultures sur lait. — Sur lait non écrémé à 20°, dans des ballons ou dans des tubes à essai, le Bacille se développe surtout sur la pellicule ou les flocons qui se forment à la surface du liquide au moment de la stérilisation, et qu'il liquéfie rapidement après les avoir colorés dans leur partie exposée à l'air en jaune vif. Le liquide devient plus fluide, roussâtre ; la peptonisation est totale en cinq à dix jours.

Propriétés biologiques. — Le développement se fait bien surtout à la température de la chambre et encore à des températures assez basses ; il peut encore se faire à 32°-37°, mais alors les cultures ne se colorent pas. Le Bacille est surtout aérobie ; il peut encore croître légèrement dans une atmosphère privée d'oxygène par un mélange d'acide pyrogallique et de potasse, mais sans colorer le milieu. Une réaction légèrement alcaline favorise la production des colorations ; une réaction fortement alcaline permet encore le développement, mais les cultures sont incolores. Donc, certaines conditions de température, d'aération, de réaction sont nécessaires pour que les colorations apparaissent ; une culture jusque-là incolore ne donne du pigment que si on fait intervenir l'un ou l'autre de ces facteurs. Sur solutions de peptones à 2 p. 100, on ne constate pas la réaction de l'indol.

Le glucose ajouté à la gélatine-peptone favorise, selon la dose, la production de bleu pur, bleu violet, violet intense très rouge par transmission, et en même temps la liquéfaction est retardée et moins considérable ; le tartrate ou le succinate d'ammoniaque favorisent la production du rouge ; l'asparagine la production du vert.

Le phosphate de calcium, ajouté aux pommes de terre, favorise la production du bleu ou de bleu violet, tandis que le phosphate de soude favorise le développement et la formation de colonies jaune-serin, ne colorant pas le substrat.

L'amidon de riz ou cet amidon et un sucre (lactose, saccharose, glucose) ajoutés au sérum de cheval favorisent la production du pigment bleu ou bleu violet, avec retard dans la liquéfaction ; tandis que par

addition d'asparagine, on obtient plus volontiers des colorations vert glauque ou vert sale.

Outre les conditions chimiques et physiques, interviennent encore des causes de variations inhérentes aux Bacilles. Avec une culture cependant bien *homogène*, il a été possible d'obtenir sur un même milieu des colonies très différentes. Ainsi sur la même face d'une pomme de terre repiquée avec la même semence il est venu des colonies violettes, roses, vertes, jaune vert, jaune d'or, marron, bleu-indigo.

Toutes les variations de nuances où le vert, le jaune, le rouge, mais surtout le bleu et le violet dominent, semblent résulter surtout des conditions actuelles de vie, de l'aliment et de ses réactions ; jusqu'ici il a été impossible, malgré l'application soutenue de conditions dysgénésiques, de créer une race incolore ou, malgré des essais nombreux, d'obtenir des races en fixant des variations.

Propriétés du pigment. — Le *Bacille polychrome* ne produit pas de bactério-fluorescéine. Son pigment bleu ne donne pas la réaction de la pyocyanine. De même que les pigments rouges, violets et verts, le pigment bleu est soluble dans l'eau.

Si aux cultures vertes sur gélatine, filtrées sur bougie Chamberland, on ajoute quelques gouttes d'une solution aqueuse de potasse ou de soude, le dichroïsme est d'abord accentué, mais par un léger excès de réactif toute teinte rouge est détruite, le vert persiste seul et paraît alors plus brillant. Abandonné dans un tube à essai, le liquide traité par la potasse ou la soude se décolore vite ; la décoloration débute par le fond du tube ; il ne persiste de coloration verte qu'à la surface en contact direct avec l'air. A ce moment, la belle coloration verte primitive peut être régénérée dans toute la masse par une vive agitation à l'air (verdissement à l'air). Par addition d'ammoniaque, la couleur verte vire au rouge ; par les acides minéraux (acides chlorhydrique, azotique, sulfurique), elle donne un rouge violet intense ; par l'acide acétique, une coloration violette ou violet bleu.

Si aux cultures violettes sur gélatine glucosée, filtrées sur bougie Chamberland, on ajoute quelques gouttes d'une solution aqueuse de potasse ou de soude, la coloration violette donne d'abord une teinte bleuâtre fugace, ensuite du vert, puis immédiatement du bleu. Abandonné au repos dans un tube à essai, le liquide, traité par la potasse ou la soude, se décolore dans les parties profondes, passe au jaune, et il ne persiste qu'une légère coloration bleue à la surface, mais on peut faire réapparaître une coloration bleue de plus en plus intense, comparable à celle d'une solution de bleu de méthylène, par une vive agitation à l'air du liquide décoloré. Au repos, le bleu disparaît de nouveau, en passant par le vert puis le jaune, et peut ainsi plusieurs fois de suite être régénéré par agitation à l'air.

Si aux solutions aqueuses bleu pur, obtenues de cultures sur pommes de terre sodées, on ajoute de la potasse ou de la soude, le liquide bleu pur reste bleu ; un grand excès de réactif donne du vert. Abandonné au repos, le liquide bleu ou vert devient jaune, sauf à la surface, où au contact de l'air il reste bleu ou vert. La recoloration se fait par agitation à l'air. L'addition d'ammoniaque fait virer le bleu au rouge violet. Le bleu vire également au rouge violet par les acides minéraux, par l'acide carbonique ; un grand excès décolore.

Les réactions spectroscopiques de quelques-unes de ces solutions de pigment paraissent être les suivantes (1).

Le pigment vert, filtré sur bougie, d'une culture sur gélatine-peptone avec dichroïsme rouge, donne une bande floue dans le rouge qui commence à $\lambda = 656$ et marche très graduellement vers l'infrarouge, une autre bande dans le jaune et orangé qui présente un maximum d'intensité à $\lambda = 587,5$, puis une bande dans le bleu et le violet qui commence à $\lambda = 460$ et présente un maximum d'intensité à $\lambda = 436$.

Le pigment bleu obtenu sur pommes de terre sodées, filtré, donne dans le rouge une bande qui commence à $\lambda = 670$, une autre bande dans le jaune et orangé qui présente un maximum d'intensité à $\lambda = 600\text{-}601$, puis dans le bleu et violet une bande qui a son maximum à $\lambda = 436$ et commence à $\lambda = 460$.

Par addition d'acide acétique, en même temps que la couleur vire, la bande située dans le jaune spécialement est déplacée vers le violet ; par addition de potasse ou de soude, la bande est déplacée vers le rouge.

Le spectre du pigment bleu obtenu sur gélatine est le même que celui du pigment bleu obtenu sur pommes de terre ; le spectre du pigment vert obtenu sur gélatine est le même que le spectre du pigment bleu obtenu sur pommes de terre, mais traité par la potasse jusqu'à coloration verte ; le spectre du pigment rouge et violet obtenu sur gélatine est le même que le spectre du pigment bleu obtenu sur pomme de terre traité par les acides. Il se pourrait que les nuances variées du pigment, les colorations absolument différentes, particulièrement rouges, vertes, bleues, violettes, soient dues aux transformations successives d'une seule et même substance.

Le microbe ne paraît pas être pathogène. Des injections intra-péritonéales massives ne déterminent rien chez le cobaye.

BACILLES BLEUS.

Smith (2) attribue le nom de *Bacillus cæruleus* à une Bactérie sécrétant un pigment bleu, qu'il a isolée d'une eau de rivière.

Les bâtonnets mesurent de 2 μ à 2,5 μ de long sur 0,5 μ de large et sont fréquemment unis en longues chaînes.

La gélatine des cultures est liquéfiée dans une faible étendue ; les parties qui s'y développent dans l'intérieur de la gelée sont blanchâtres, la portion superficielle est colorée en bleu.

Sur pomme de terre, il se forme, à la température ordinaire, une couche d'un bleu sombre, qui avec le temps devient d'un bleu noir.

La matière colorante ne se produit qu'à l'air. Elle est renfermée dans les cellules et ne se dissout ni dans l'eau, ni dans l'alcool, ni dans les acides.

Cette espèce ne paraît avoir aucune action pathogène.

Claessen (3) a isolé, de l'eau de la Sprée, une Bactérie sécrétant un pigment bleu-indigo.

Ce sont de petits bâtonnets à extrémités arrondies, dont les dimen-

(1) Chamot et Thiry, Le pigment du Bacille polychrome. Cultures. Spectre (*Réunion biol. de Nancy*, 1898).

(2) Smith, A new chromogenic Bacillus (*Medical News*, II, 1887, n° 27, p. 758).

(3) Claessen, Ueber einen indigoblauen Farbestofferzeugenden Bacillus aus Wasser (*Centralbl. für Bakt.*, VII, 1890, p. 13).

sions sont les mêmes que celles du Bacille typhique. Ils sont très mobiles et sont tantôt isolés, tantôt réunis par deux ou trois. Ils se colorent facilement aux couleurs d'aniline et se décolorent par la méthode de Gram.

En culture sur plaques de gélatine, les colonies n'apparaissent qu'au troisième jour, sous forme de petits disques d'un blanc gris. Celles qui arrivent à la surface rappellent d'abord comme aspect les colonies du *Bacille typhique* : le centre se colore, puis la nuance diffuse dans toute la colonie ; Claessen n'a pas observé de liquéfaction.

En piqûre dans la gélatine on observe, au bout de vingt-quatre heures, un point d'un bleu-indigo formé à l'endroit de la piqûre. Les jours suivants, la culture s'étend nettement à la surface de la gelée. Il ne se développe presque rien dans le canal de la piqûre. La colonie se colore progressivement : la gelée elle-même ne se teint jamais.

Le bouillon se trouble rapidement et laisse déposer un sédiment floconneux, épais.

Sur gélose, cette Bactérie croît très vite en donnant une épaisse culture humide, brillante, colorée en bleu noir intense.

Sur pomme de terre, il se forme, en trois ou quatre jours, une colonie d'un bleu-indigo foncé.

La matière colorante est insoluble dans l'eau, l'alcool absolu et le chloroforme, même à chaud, presque insoluble dans le sulfure de carbone, froid ou chaud, et dans un mélange à parties égales d'éther et d'alcool. Elle est faiblement soluble dans la lessive de soude chaude. Elle se dissout en donnant une coloration jaune brun dans l'acide sulfurique concentré bouillant et avec une teinte bleu-indigo dans l'acide chlorhydrique concentré. L'addition d'ammoniaque à cette dernière solution fait disparaître la couleur qui reparaît par addition d'acide; à l'air, cette nuance bleue devient brun jaunâtre.

Le *Bacillus indigoferus* de Voges (1) ne peut guère être distingué du Bacille de Claessen. Les caractères donnés comme différentiels sont d'ordre tout à fait secondaire.

Voges décrit sous le nom de *Bacillus cæruleus* une autre Bactérie à pigment bleu dont les bâtonnets bien mobiles mesurent de 0,9 à 1,4 μ de long sur 0,7 à 0,9 μ de large.

Sur gélatine en piqûre, la culture, en forme de clou, est peu abondante. La tête a une coloration gris bleu, sans irisation. Les colonies du canal prennent une teinte un peu bleue ou verdâtre. La liquéfaction de la gelée se fait, mais très lentement, et s'arrête vite.

Sur gélose, la culture est assez épaisse et ne se colore pas ; la gelée reste incolore.

Sur pomme de terre, les colonies sont d'abord bleu clair puis bleu foncé, presque noir.

Le lait n'est pas modifié et ne se colore pas.

La matière colorante est soluble dans l'eau et dans l'alcool, insoluble à froid ou à chaud dans la benzine, l'essence de térébenthine, l'éther et le chloroforme.

Les cultures sont absolument sans effet sur les souris blanches.

(1) Voges, Ueber einige im Wasser vorkommende Pigmentbakterien (*Centralbl. für Bakt.*, XIV, 1893, p. 301).

BACILLUS VIOLACEUS.

ATLAS DE MICROBIOLOGIE, PL. XXVIII.

C'est une Bactérie assez commune dans l'eau ; j'ai pu l'isoler d'eau de puits, d'eau de citerne et d'eau de rivière (1). Sa présence m'a, dans tous les cas, paru coïncider avec une forte proportion de matières organiques et être un mauvais indice pour la pureté de l'eau. C'est, selon toutes probabilités, cette espèce que Schroeter (2) avait décrite sous le nom de *Micrococcus violaceus*, trouvée sur des tranches de pomme de terre exposées à l'air; ce qui indiquerait qu'elle peut également se trouver en suspension dans l'atmosphère. C'est elle aussi que Bujwid (3) a obtenue d'eau de fusion de grêlons. Elle doit être plus commune dans l'eau qu'on ne se l'imagine ; il est parfois difficile de la reconnaître sur plaques et souvent les cultures sur gélatine ne produisent pas la même matière colorante caractéristique. Je l'ai rencontrée en grande abondance dans divers échantillons de terre, pris à d'assez grandes profondeurs, 2 et même 3 mètres.

Ce sont des bâtonnets courts, à extrémités arrondies, mesurant de 2 à 3 μ de long sur 0,4 à 0,5 μ de large. Ils sont immobiles et peut-être lentement mobiles dans les liquides. Il se forme, dans les vieilles cultures, des spores arrondies ou un peu elliptiques, de même largeur que les bâtonnets.

En culture sur *plaques de gélatine*, les colonies se développent rapidement ; elles peuvent avoir atteint leur maximum en trois jours. Ce sont de petites taches hyalines, à bords sinueux, à surface ondulée, dont le centre surbaissé est opalescent, jaunâtre. La partie centrale se creuse rapidement et la liquéfaction se fait en très peu de temps. Sur le liquide nage une peau épaisse très visqueuse, très cohérente, qui s'enlève d'un seul bloc ; elle se colore souvent en violet après un temps assez long, en totalité ou en partie seulement, par zones concentriques. Parfois elle reste incolore, rien ne différencie plus ces colonies, qui se sont fondues en un liquide trouble, blanchâtre.

Inoculée en *piqûre* dans un tube de *gélatine*, cette espèce liquéfie très vite le milieu. Le liquide est trouble ; il se forme à la surface une pellicule blanche, adhérente aux parois. Au bout d'un long temps, plusieurs semaines, ce voile peut présenter un mince liséré violet. Au fond du tube, s'est déposé un sédiment épais, blanchâtre. D'autres fois la liquéfaction est plus lente à s'observer, surtout avec les gelées très consistantes; la colonie, qui forme alors une couche assez épaisse d'un beau violet, creuse d'abord le milieu, puis la liquéfaction se produit graduellement. Sur le liquide nage une épaisse pellicule violette ; au fond se trouve un dépôt blanc un peu violet ; le liquide peut être faiblement teinté de rose violacé. Les cultures développent souvent une forte odeur d'acide butyrique.

Sur *gélose*, le développement est plus spécial : en deux ou trois jours,

(1) MACÉ, Sur quelques Bactéries des eaux de boisson (*Ann. d'hygiène*, avril 1888).

(2) SCHROETER, Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente (*Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, I, 2e p., p. 109, 1881).

(3) BUJWID, Sur des Bactéries trouvées dans la grêle (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1887, no 12, p. 592).

il apparaît, le long de la strie, une petite tache blanche, qui grandit et donne une pellicule épaisse ou plissée. Cette culture devient rapidement d'un beau violet noir. La même odeur butyrique se perçoit ; elle manque parfois sans qu'on en puisse saisir la raison.

Sur *pomme de terre*, il se forme une culture visqueuse, peu épaisse, qui brunit et arrive à couvrir toute la surface de la tranche. Les seules parties qui sont en contact immédiat avec la matière d'ensemencement deviennent violettes.

Dans le *bouillon*, le développement se fait comme dans la gélatine liquéfiée.

La particularité la plus intéressante de cette espèce est sans contredit la production de pigment. La matière colorante ne se produit pour ainsi dire pas dans les liquides, ou seulement dans des proportions tout à fait insignifiantes et immédiatement à la surface. Elle est très abondante dans les premières cultures sur gélose ; elle ne s'y forme qu'au contact de l'air ; si l'on verse à la surface du milieu ensemencé une petite couche d'huile, la culture est très lente et reste blanche. Les couches inférieures d'une colonie épaisse sont beaucoup plus claires que les superficielles. Le pigment ne semble pas imprégner les cellules, mais plutôt la substance gélatineuse qui les réunit en zooglées ; c'est surtout cette dernière qui paraît colorée. Cette matière colorante est insoluble dans l'eau et très soluble dans l'alcool absolu en une liqueur d'un beau violet foncé, prenant la teinte d'une solution de violet d'aniline lorsque la proportion de culture est assez forte ; la solution peut se conserver longtemps sans s'altérer, surtout à l'obscurité. En solution, l'ammoniaque la fait passer au bleu puis au vert ; il se produit en peu de temps une décoloration totale ; par neutralisation avec l'acide acétique, il réapparaît une légère teinte violette. La potasse donne du vert, puis du jaune-orange ; la couleur ne se régénère plus après neutralisation. L'acide acétique ne change pas la nuance, même après un long contact. L'acide azotique fait virer au vert, puis au jaune un peu verdâtre.

Cette propriété de sécréter du pigment diminue et arrive même à disparaître presque complètement après un certain nombre de générations. Les cultures sont alors moins fortes et colorées dans une faible portion de leur étendue. De semblables cultures, par un passage sur pomme de terre, récupèrent, en partie au moins, leur puissance chromogène ; les nouvelles colonies qui en proviennent, par ensemencement sur gélose, sont beaucoup plus fortes et plus colorées. On rencontre des colonies qui n'ont cette propriété de produire du pigment que très atténuée ; les premières cultures sont simplement un peu violacées ou même striées de quelques raies violettes.

On doit rapporter à cette même espèce les *Bacilles violets* décrits par G. et P. Frankland (1), Jordan (2), Migula (3), Marshall Ward (4).

(1) GRAN et PERCY FRANKLAND, Ueber einige typische Mikroorganismen im Wasser und im Boden (*Zeitschr. für Hygiene*, VI, p. 394).

(2) JORDAN, Stocke Board of Health, Massachusetts Purification of sewage water, 1890, p. 838.

(3) MIGULA, Pseudomonas pseudoviolacea. System der Bakterien, vol. II, p. 943.

(4) MARSHALL WARD, A violet Bacillus of the Thames (*Ann. of Bot.*, 1898, p. 59).

BACILLUS JANTHINUS Zopf.

Cette Bactérie violette est assurément à distinguer de la précédente; c'est elle sans doute que Zopf (1) a décrite sous le nom de *Bacterium janthinum* et donne comme ne liquéfiant pas la gélatine. Il l'a rencontrée sur des morceaux de vessie de porc, flottant dans une eau stagnante. Je l'ai observée dans des cultures sur plaques d'une eau de boisson, pauvre en matières organiques et très peu riche en Bactéries.

Elle forme, en culture sur *plaques de gélatine*, des colonies presque identiques à celles du *Bacille typhique* (2). Même forme, même transparence, même aspect bleuté irisé. Toutefois, il subsiste dans la partie centrale un reste de la colonie profonde qui s'aperçoit comme une tache plus sombre. Les colonies des premières cultures peuvent ne pas se colorer ou se teindre en violet sombre dans la partie centrale; elles ne liquéfient pas la gélatine, dans le temps assez court que peut durer une semblable culture. Après plusieurs générations, les colonies obtenues présentent bien les mêmes caractères, mais la liquéfaction se produit vers le quatrième ou cinquième jour et la gélatine prend une légère teinte bleu-ardoise.

En *strie* sur *gélatine*, on obtient une bande blanche opaque, à bords nets, qui ne s'accroît jamais beaucoup. La teinte violette n'apparaît souvent que fort tard et bien après encore la liquéfaction, qui se produit quelquefois un mois après l'ensemencement et ne progresse que lentement. La gélatine liquéfiée reste toujours limpide; la colonie violette tombe au fond en gardant sa couleur et y forme un amas lourd et visqueux.

Les cultures sur *gélose* sont moins fortes que celles de l'espèce précédente et ne se colorent jamais d'une façon aussi intense. Celles sur *pomme de terre* sont identiques.

Ces cultures renferment des bâtonnets de 1,8 μ à 2 μ de long, sur 0,6 μ de large, à extrémités arrondies, isolés ou unis par deux. Ils ont un mouvement assez vif, mais ne subissent pas de grands déplacements; c'est plutôt une trépidation rapide.

La matière colorante est très soluble dans l'alcool absolu en une belle liqueur violette, plus claire que celle obtenue de l'espèce précédente. Les réactions des deux solutions, avec les acides et les alcalis, sont identiques. Le pigment du *Bacillus janthinus* paraît bien moins stable que celui du *Bacillus violaceus*; sa solution alcoolique se décolore complètement en quelques jours à la lumière.

Le *Bacillus lividus* de Plagge et Proskauer (3), le *Bacillus amethystinus* d'Eisenberg (4), le *Bacillus membranaceus amethystinus mobilis* de Germano (5), sont à rapprocher de cette espèce.

(1) Zopf, Die Spaltpilze, 1885.
(2) Voy. *Atlas de microbiologie*, pl. XI, fig. 5.
(3) Plagge et Proskauer, Untersuchungen des Berliner Leitungswassers (*Zeitschr. für Hygiene*, II, 1887, p. 401).
(4) Eisenberg, Bakteriologische Diagnostik.
(5) Germano, Der Bacillus membranaceus amethystinus mobilis (*Centralbl. für Bakt.* XII, 1892, p. 516).

BACILLUS CHLORINUS Engelmann.

Engelmann (1) a décrit, sans détails suffisants, sous le nom de *Bacterium chlorinum*, une espèce en gros bâtonnets mobiles, qu'il a rencontrée dans de l'eau où se putréfiaient des plantes. La coloration verdâtre des cellules lui a paru due à de la chlorophylle ; elle était cependant plus pâle que celle des grains chlorophylliens de même grosseur. Les bâtonnets sont sensibles à l'action de la lumière ; dans un vase dont un des côtés seul est éclairé, ils s'amassent dans cette partie.

Il faut probablement rapprocher de cette espèce une Bactérie que je dois à l'obligeance du professeur Le Monnier. Elle formait à la surface de Truffes un enduit muqueux assez épais, de consistance grenue, friable, coloré en vert clair, un peu jaunâtre. Cette zooglée renfermait des Bacilles gros et courts, mesurant 2 μ de long sur 1 μ de large, à extrémités arrondies. Ils étaient vivement mobiles, sans présenter toutefois de mouvements étendus. J'ai pu les cultiver sur les milieux ordinaires, mais sans obtenir sur aucun une coloration verte aussi intense que celle de la colonie où je les avais observés.

En cultures sur plaques, ils forment, dans l'épaisseur de la gelée, de petites colonies rondes, d'un jaune vert, qui se développent peu et liquéfient très vite la gélatine, sans s'étendre.

En piqûre dans un tube, ils liquéfient la gélatine où se dépose un sédiment blanchâtre.

Sur gélose, on obtient, en strie, une large culture jaune un peu verdâtre, épaisse, de consistance butyreuse.

Le bouillon ensemencé verdit assez vite et peut même devenir vert-pomme. Le liquide s'éclaircit peu à peu par séparation d'un dépôt blanc, teinté de vert.

La matière colorante est soluble dans l'alcool absolu ; elle donne un liquide vert jaunâtre ou plutôt vert de vessie clair. Je n'en ai pas pu obtenir une quantité suffisante pour l'étudier.

BACILLUS VIRIDIS Van Tieghem.

Van Tieghem (2), qui n'a malheureusement donné que trop peu de détails sur ces Bactéries vertes intéressantes, a rencontré celle-ci dans un mince dépôt vert formé dans la cavité, pleine d'eau, d'un chapeau de Polypore.

Ce sont de petits bâtonnets d'un vert pur, étranglés au milieu, complètement immobiles. Dans l'eau, ils deviennent jaunâtres ; il apparaît dans leur intérieur un noyau brillant, très réfringent, sphérique ou légèrement ovale ; c'est une vraie spore. Le restant du protoplasma se décolore complètement. La spore est mise en liberté par gélification.

(1) Engelmann, Zur Biologie der Schizomyceten (*Bot. Zeit.*, 1882, n° 20, p. 320).
(2) Van Tieghem, Observations sur les Bactériacées vertes (*Bull. de la Soc. bot.* 1880, p. 174).

BACILLUS VIRENS Van Tieghem.

Il a été trouvé (1) dans l'eau parmi les Spirogyres, puis dans des eaux stagnantes.

Ce sont des filaments étroits, d'un vert pur tirant sur le jaune, ordinairement immobiles, mais parfois doués de mouvements lents. Les articles qui se forment par leur segmentation sont assez longs, ils ressemblent comme dimensions à ceux du *Bacillus anthracis*. Exposés pendant plusieurs jours à l'obscurité, il se produit, dans chacun d'eux, une spore ovale, très réfringente, incolore, au niveau de laquelle l'article est parfois légèrement renflé; en même temps, on observe une décoloration complète. Mises en liberté, les spores germent dans l'eau, en donnant un filament mince, d'abord incolore, puis verdissant à la lumière et atteignant les dimensions du filament primitif.

Aucun caractère de culture n'a été donné pour ces deux espèces, qui n'ont pas encore été retrouvées par d'autres observateurs. La matière colorante verte n'a pas été étudiée; c'est sans aucune raison positive que beaucoup la considèrent comme de la substance chlorophyllienne.

L'organisme filamenteux observé par Dangeard (2) n'est très probablement pas une Bactérie ; en tout cas rien de précis n'est acquis sur le pigment vert clair qu'il contient.

BACILLUS CHLORORAPHIS Guignard et Sauvageau.

Atlas de microbiologie, pl. xxx.

Guignard et Sauvageau (3) ont rencontré cette espèce sur des cadavres de vers blancs ; je l'ai trouvée à plusieurs reprises dans des eaux de puits ou de rivière.

C'est un petit Bacille d'environ 1,5 μ de long sur 0,8 μ de large, à extrémités arrondies et légèrement renflées. Il produit assez vite des spores et reste difficilement coloré par la méthode de Gram.

Les cultures se font surtout bien vers 25-30 degrés.

En cultures sur *plaques de gélatine*, les colonies liquéfient très vite en donnant une large cupule remplie d'un liquide trouble, à petits flocons grisâtres. La culture est toute liquéfiée en quelques jours et ne présente pas de fluorescence verte ; mais après cinq à six jours, on y rencontre de petits points d'un vert noir qui, au microscope, sont des sphéro-cristaux d'un beau vert.

Sur *gélatine*, en piqûre, la liquéfaction est rapide; le liquide est un peu fluorescent, il s'y développe des points verts qui sont formés d'amas de longues aiguilles cristallines de cette nuance. Les cristaux sont plus nombreux dans la gélatine glucosée à 5 p. 100; il ne s'en produirait pas en remplaçant le glucose par le maltose, le saccharose ou la dextrine.

(1) Van Tieghem, Observations sur les Bactériacées vertes (*Bull. de la Soc. bot.*, 1880, p. 174).

(2) Dangeard, Contribution à l'étude des Bactériacées vertes (*Journ. de micr.*, 25 février 1891, et *Ann. de micr.*, VII, 1895, p. 67).

(3) Guignard et Sauvageau, Sur un nouveau microbe chromogène, le *Bacillus chlororaphis* (*Soc. de Biol.*, 22 décembre 1894).

Sur *gélose*, la culture est grisâtre, un peu transparente ; il ne se forme de cristaux que dans le liquide qui peut se trouver au fond du tube.

Sur *sérum coagulé*, la culture ressemble d'abord à celle sur gélose, puis produit la liquéfaction du milieu.

Sur *pomme de terre*, il se produit une glaçure jaunâtre, s'étendant facilement sur tout le tubercule. La culture peut présenter des points verts après trois ou quatre jours; ils sont nombreux après une quinzaine de jours.

Le *bouillon* se trouble vite, devient un peu fluorescent. Des cristaux verts se forment, parfois très nombreux, sur les parois du ballon, surtout du côté opposé à la lumière.

Le *lait* est rapidement coagulé ; la culture prend une teinte jaunâtre et une consistance visqueuse ; les cristaux verts se montrent après une huitaine de jours.

Les aiguilles vertes sont souvent longues, flexueuses; d'autres fois plus nettement prismatiques. Elles forment des paquets, des macles, ou des sphéro-cristaux. Elles sont insolubles dans l'eau bouillante, et n'abandonnent rien à la plupart des dissolvants neutres ; l'alcool absolu bouillant dissout assez bien la matière verte.

Les alcalis avivent la nuance verte ; les acides forts la décolorent. Avec l'acide chlorhydrique, avant de se détruire, elle passe au bleu ; avec l'acide azotique, au rouge orangé.

Le pigment véritable ne fait peut-être qu'imprégner des cristaux de composés amidés ou protéiques.

BACILLUS FLUORESCENS LIQUEFACIENS Flugge.

Atlas de microbiologie, pl. XLVII.

Cette espèce, très répandue dans la nature, faisait certainement partie des Bactéries anciennement comprises sous la dénomination de *Bacterium termo*. Elle abonde dans toutes les putréfactions, surtout au début ; elle est très commune dans l'eau, l'air et les couches supérieures du sol.

La propriété qui la signale le plus à l'attention est la production, dans beaucoup de milieux, d'une belle fluorescence verte ; c'est la propriété qui a fait donner son nom au microbe.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Ce sont de courts bâtonnets, à extrémités arrondies, mesurant en moyenne 1,5 µ de longueur et 0,4 µ de largeur, isolés ou plus souvent réunis par deux, mobiles. La longueur peut s'accroître, dans les cultures sur milieux solides, et atteindre presque 3,2 µ.

Dans les milieux défavorables, il peut se montrer des formes d'involution variées, des éléments courbés, en forme de crosse, spiralés.

Il ne semble pas se produire de spores.

Coloration. — Les bâtonnets prennent bien les colorations ordinaires. Traités par la méthode de Gram, ils se décolorent irrégulièrement ; certains éléments gardent un peu la couleur. Tout se décolore par la méthode de Claudius.

Cultures. — En culture sur *plaques de gélatine*, cette espèce donne, en deux ou trois jours, de petites colonies circulaires grises, qui s'entourent rapidement d'une zone annulaire, très régulière, de liquéfaction. Le quatrième ou le cinquième jour, la colonie est bien développée; au milieu de la masse liquéfiée, qui mesure de 4 à 5 millimètres de diamètre, on trouve les restes de la colonie profonde, sous forme de petits amas blanchâtres, floconneux, égaux, disposés en masse ou en anneau autour du centre. La gelée environnante se teint en vert clair. Cette colonie peut grandir beaucoup et atteindre de fortes dimensions; les bords sont alors taillés à pic dans la gélatine et la cupule est à moitié remplie d'un liquide peu trouble, où nagent des flocons blancs.

La *gélatine*, inoculée *en piqûre*, est rapidement liquéfiée. Il se forme à la surface, dès le premier jour, une petite cupule de liquéfaction et un trouble blanchâtre dans le canal. La liquéfaction progresse et atteint, au bout de quelque temps, le fond du tube. Le liquide se colore en vert dans sa partie supérieure et reste très longtemps trouble, on trouve au fond un épais sédiment blanchâtre; la teinte verte du liquide a disparu ou est remplacée par une coloration brunâtre.

Sur *gélose*, il forme une colonie muqueuse, gris jaunâtre, visqueuse, qui peut devenir très épaisse; la gelée se colore souvent en vert dans sa partie supérieure.

Sur *pomme de terre*, on obtient une couche jaune sale, luisante, peu épaisse.

Le *bouillon* se trouble dès la douzième heure; il ne se forme pas de voile à la surface, ou un très léger voile blanc, mais un dépôt assez épais au fond du vase. La fluorescence apparaît en vingt-quatre à quarante-huit heures. Le liquide devient dichroïque; jaune par transmission, il est d'un beau vert clair par réflexion. Le liquide reste trouble pendant longtemps. Lorsqu'il s'est éclairci, dans les très vieilles cultures, la fluorescence verte a diminué, le bouillon est un peu brunâtre. Les peptones pepsiques paraissent mieux convenir pour la fluorescence.

Dans le *lait*, il se produit lentement un coagulum visqueux et une fluorescence assez tardive. Le liquide est alcalin.

Dans les *milieux minéraux*, surtout le liquide d'Arnaud et Charrin, ils donnent rapidement de la fluorescence. Cette fluorescence est bleue au début et peut rester telle tout le temps, ou passer plus ou moins vite au vert, probablement par suite de production d'ammoniaque. Si l'on remplace l'asparagine par d'autres sources d'azote, l'urée par exemple ou des sels ammoniacaux à acide organique, on ne constate plus de fluorescence, à moins de mettre en même temps du glucose ou de la glycérine.

Propriétés biologiques.

Vitalité. — C'est un microbe aérobie strict. Le développement et la fluorescence évoluent très bien à 14°; l'optimum pour la production de pigment paraît être vers 20°-22°, pour le développement à 28°. A 32°, il ne se produit plus de fluorescence. On peut encore observer un développement sans fluorescence vers 42 degrés.

Produits formés dans les cultures. — Les cultures développent à la

longue une odeur fécaloïde ; au début, elles n'ont presque pas d'odeur ; celles sur albuminoïdes ont une odeur de choux pourris.

Elles présentent une réaction alcaline, due à l'ammoniaque produite en quantité notable.

On ne constate jamais la production d'indol. Il se forme de petites quantités d'hydrogène sulfuré.

Ce microbe n'intervertit pas les sucres, ne modifie pas l'amidon et ne fait pas fermenter l'urée. Il donne toujours de l'ammoniaque aux dépens des matières albuminoïdes.

C'est un agent de dénitrification énergique ; il décompose les nitrates en nitrites, pousse peut-être le processus jusqu'à la formation d'ammoniaque et même au dégagement de l'azote gazeux.

La matière pigmentaire est certainement dissoute dans le liquide ; du bouillon filtré sur porcelaine et absolument stérile est même plus fortement coloré qu'avant. Il m'a été impossible de l'isoler, en usant de nombreux artifices. Le bouillon coloré devient bien plus vert par addition de potasse ou d'ammoniaque. De très faibles quantités d'acide détruisent la couleur, qui est alors régénérée par neutralisation à l'ammoniaque. L'ébullition fait pâlir la nuance verte.

La nuance normale du pigment fluorescent paraît être bleue ; la coloration verte serait due à l'action sur ce pigment bleu d'une petite quantité d'ammoniaque formée par le microbe.

D'après Gessard (1), la fluorescence serait liée à la présence de phosphates dans le milieu. La présence de tels microbes fluorescents dans les eaux devrait faire suspecter une souillure d'origine animale, pouvant seule faire apport d'acide phosphorique dans ce milieu. Cette constatation de l'influence des phosphates a été faite, il est vrai, avec le *Bacille pyocyanique*, produisant, à côté de la pyocyanine, une autre substance douée de la propriété de fluorescence verte ; il n'est pas à dire que les mêmes résultats s'obtiennent avec les autres espèces, assez nombreuses, qui présentent une fluorescence semblable.

Cette Bactérie ne paraît avoir aucune propriété pathogène à l'égard des animaux d'expérience.

Ducamp et Planchon (2) ont isolé des eaux de Montpellier une autre espèce bacillaire très voisine du *Bacillus fluorescens liquefaciens*. Elle en diffère surtout en ce qu'elle produit un voile dans les bouillons et qu'elle est nettement pathogène pour le lapin.

C'est un Bacille court et épais, à extrémités arrondies, mesurant 2 μ de longueur sur 0,8 μ de large. Les éléments, souvent isolés ou réunis par deux ou trois, sont très mobiles. Ils se colorent difficilement.

Sur *plaques de gélatine*, les colonies sont d'abord de petites gouttelettes huileuses, jaunâtres, arrondies ; elles s'entourent d'une auréole plus claire et liquéfient très rapidement le milieu.

Sur *gélatine*, en *piqûre*, il se forme d'abord une petite culture en clou ; puis une cupule de liquéfaction qui progresse très vite. La gélatine prend une belle fluorescence verte ; le liquide se couvre d'un voile plissé.

(1) Gessard, Sur la fonction fluorescigène des microbes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 801).

(2) Ducamp et Planchon, Sur un Bacille fluorescent et liquéfiant des eaux d'alimentation de Montpellier (*Soc. de Biol.*, 17 mars 1894).

Sur *gélose*, il se forme rapidement une colonie blanche, humide. Le milieu prend une fluorescence verte, qui fait parfois défaut.

Sur *pomme de terre*, la culture, d'abord blanchâtre, devient d'un beau jaune d'or, d'aspect cireux.

Le *bouillon* se trouble très vite; il se forme, à la surface, un voile d'abord délicat, puis épais, plissé, et, au fond du vase, un dépôt blanc jaunâtre, épais. Le liquide a d'abord une belle fluorescence verdâtre; avec l'âge, il brunit. Dans le dépôt et parfois dans le voile, il se forme des granulations pigmentaires d'un vert presque noir.

Le *lait* se coagule assez vite, surtout à l'étuve. Le coagulum se teint en verdâtre, puis se dissout en grande partie après quelques jours.

Ce microbe pousse très rapidement vers 20°; très abondamment à 37°, mais alors sans produire de pigment. La fluorescence, d'un vert bleuâtre, est probablement indépendante du pigment vert qui se forme en granulations.

Une inoculation de 1 centimètre cube de culture dans la veine de l'oreille, dans le péritoine ou sous la peau d'un lapin, tue l'animal en dix à quinze heures; il en est de même avec les oiseaux. Les cultures du sang ou des organes donnent l'espèce bactérienne employée. Les rats et les cobayes paraissent réfractaires.

BACILLUS FLUORESCENS PUTRIDUS Flugge.

(*Bacille fluorescent non liquéfiant.*)

Atlas de microbiologie, pl. XLVIII.

Cette Bactérie s'observe dans les mêmes circonstances que la précédente qu'elle accompagne fréquemment. Plusieurs caractères sont communs aux deux espèces; la dernière se distingue surtout par la non-liquéfaction de la gélatine sur laquelle elle croît.

Les bâtonnets ont une longueur de 2 μ à 2,2 μ et une largeur de 0,45 μ; ils sont mobiles, mais ne présentent jamais de grands mouvements.

En culture sur *plaques de gélatine*, les colonies apparaissent comme de petits disques transparents, un peu jaunâtres. Celles qui arrivent à la surface de la gelée prennent en peu de temps un grand développement. Elles donnent, en quelques jours, de minces pellicules hyalines, à bords très sinueux, à surface tourmentée, ressemblant un peu aux colonies de *Bacille typhique*, mais plus aplaties et beaucoup plus larges. De plus, la gelée ambiante se teint en vert dans une assez grande largeur et la plaque dégage une odeur forte, urineuse.

En strie sur *gélatine*, on obtient une culture incolore, presque transparente, plus épaisse que celle du *Bacille typhique*; il se forme une bande médiane à bords lobés, rappelant comme aspect la fronde de certaines Fougères, les *Polypodium*, dont les plis se continuent dans la colonie. La gelée ambiante se teint en vert dans une bonne partie de son étendue; la coloration est parfois brunâtre.

Sur *gélose*, c'est une couche muqueuse grisâtre, pâteuse plutôt que visqueuse. Le milieu est aussi coloré en vert.

Sur *pomme de terre*, la culture ressemble assez au début à celle du

Bacille typhique ; c'est une mince glaçure incolore, un peu gluante. Elle devient rosée ou brunâtre, luisante, comme vernissée et produit souvent des bulles de gaz qui la soulèvent en certains endroits.

Le *bouillon* ensemencé se trouble dès le premier jour, à 20° ; en trois ou quatre jours, il s'y est formé un voile incomplet, mince, se déchirant par grands lambeaux ; il existe au fond du vase un dépôt blanchâtre très abondant. Le liquide présente aussi une fluorescence verdâtre, mais beaucoup moins prononcée que celle produite par l'espèce précédente.

Toutes les cultures, mais surtout celles sur pomme de terre et dans le bouillon, développent une odeur, souvent très forte, qui rappelle celle de l'urine putréfiée. Cependant les cultures sur gélatine et sur gélose peuvent être presque inodores. Les cultures ne paraissent avoir aucune propriété pathogène.

Comme l'espèce précédente, celle-ci se rencontre souvent dans les crachats verts. C'est très probablement un microbe d'habitat intestinal.

Frick (1) a isolé des *crachats verts* une Bactérie voisine, qui se distingue de celle-ci par des caractères assez nets.

C'est un mince Bacille dont la longueur est de six à sept fois supérieure à la largeur, très mobile. Il ne liquéfie pas la gélatine et lui communique, ainsi qu'à la gélose et au bouillon, une fluorescence verte. Il coagule la caséine du lait sans l'attaquer ; les vieilles cultures prennent aussi une teinte verdâtre. Sur pomme de terre, il forme un revêtement brunâtre ressemblant à de la compote de pommes ; la pomme de terre prend, autour de la culture, une teinte violet sale.

La matière colorante est insoluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme ; très soluble dans l'eau, surtout si l'on ajoute un peu d'alcali.

Ce microbe se colore bien aux couleurs d'aniline et reste coloré par la méthode de Gram.

Lepierre (2) a isolé des eaux d'une citerne de Coïmbre un Bacille fluorescent non liquéfiant, différant surtout du *Bacillus fluorescens putridus* par ses propriétés pathogènes très marquées pour le lapin et le cobaye.

Ce Bacille mesure 2 à 3 μ de long sur 0,5 μ de large ; dans les milieux liquides, il atteint de 4 à 6 μ. Il est parfois légèrement incurvé et presque immobile. Il prend bien les couleurs d'aniline et se *décolore* par la méthode de Gram.

Sur *plaques de gélatine*, les colonies profondes sont rondes et colorées en jaune brunâtre, les superficielles sont hyalines, à bords nets, peu sinueux, à surface humide, granuleuse, sans sillons. La gélatine prend autour d'elles une belle fluorescence verte et ne se liquéfie pas.

Sur *gélatine*, en *piqûre*, le développement ne se fait qu'à la surface ; en *strie*, la culture est hyaline, grisâtre, à bords sinueux. La fluorescence vert pâle diffuse dans toute la gelée.

Sur *gélose*, le développement est très rapide ; la culture est d'un blanc sale. La fluorescence se manifeste après deux jours, pour disparaître vers le dixième jour ; la gelée prend alors une teinte brunâtre.

(1) Frick, *Virchow's Arch. für path. Anat.*, CXVI, p. 266.
(2) Lepierre, Étude d'un Bacille fluorescent pathogène (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 643).

Sur *sérum*, le développement est semblable à celui de la gélose ; la fluorescence n'apparaît pas.

Sur *pomme de terre*, il se forme en vingt-quatre heures un enduit jaune brun humide ; le milieu devient noirâtre autour de la colonie ; il ne se produit pas de fluorescence.

Dans le *bouillon*, il se forme, à la surface, des voiles successifs qui tombent rapidement au fond ; le liquide reste assez transparent. La fluorescence est très nette après deux jours. L'odeur des cultures jeunes rappelle celle de l'infusion de chaux ; celle des vieilles cultures l'odeur des choux pourris. La fluorescence se conserve longtemps dans les bouillons de viande ; dans les peptones, elle disparaît au bout de quelques jours.

Dans le *lait*, il ne se produit d'abord aucun phénomène appréciable ; le liquide fourmille de bactéries et devient alcalin, sans se coaguler.

Après deux mois, il est coagulé en partie et resté alcalin. Il ne s'y produit jamais de fluorescence, même avec addition de phosphates.

Le microbe ne fait pas fermenter les sucres et ne produit jamais d'indol. Il ne se développe pas sans air. Il végète très peu à 10°, ou mieux entre 20° et 30° ; très bien à 37°, mais sans produire de pigment. Chauffé en tubes capillaires, il est tué en une minute, vers 55-60 degrés.

Les phosphates n'ont ici aucune influence sur la fluorescence.

Les cobayes succombent en un à six jours, après une inoculation intrapéritonéale ; ils présentent une péritonite, avec exsudat abondant, et des abcès blanchâtres, à contenu caséeux, dans le foie et la rate.

Ces Bacilles *fluorescents non liquéfiants* paraissent être bien voisins du *Bacille pyocyanique*.

BACILLUS LUTEUS Flugge.

Flügge (1) a donné ce nom à une espèce de l'air qui vient fréquemment contaminer les plaques.

Ce sont des bâtonnets d'une longueur moyenne de 2,8 μ et d'une largeur de 1,5 μ, immobiles, isolés ou souvent réunis par deux. J'ai observé dans les cellules la formation de spores ovoïdes, de 1,8 μ de long et de même largeur que les bâtonnets, qui se renflent un peu pour les contenir. Elles sont situées le plus souvent au milieu du bâtonnet, parfois plus rapprochées de l'une ou de l'autre des extrémités.

Les colonies des cultures sur plaques sont des disques assez gros, jaune d'or, ne liquéfiant pas la gélatine.

La gélatine des cultures n'est jamais liquéfiée. En strie, il se produit une culture assez large, membraneuse, plissée, colorée en un beau jaune d'or.

Sur gélose, le développement est beaucoup plus abondant, surtout à une température de 30° environ. Il se forme une couche jaune qui peut atteindre une grande épaisseur et recouvrir une bonne partie de la surface libre du milieu. Les bords sont nets ; la surface en est verruqueuse.

La matière colorante est très soluble dans l'alcool absolu ; elle donne une liqueur jaune d'or pâle. Sous l'influence des alcalis, elle vire au jaune-bistre, elle est ramenée à sa teinte par neutralisation ; les acides sont sans action sur elle. Elle se produit mieux à l'étuve vers 30° et se détruit en partie dans les vieilles cultures qui pâlissent.

(1) Flügge, Die Microorganismen.

Dobrzyniecki (1) a isolé de la bouche un Bacille jaune qu'il nomme *Bacillus luteus*, à bâtonnets immobiles, de 1,5 μ de long. Il ne liquéfie pas la gélatine et y forme des colonies jaune d'or. De semblables colonies se développent sur les autres milieux.

Rodsewitch (2) a rencontré sur des épis de blé un Bacille très court, mobile, liquéfiant fortement la gélatine, donnant sur pomme de terre et sur gélose une culture d'un jaune vif. Il reste coloré par la méthode de Gram et se montre dépourvu de toute action pathogène.

Smith et Baker (3) nomment *Bacillus luteus sporogenes* une espèce qu'ils ont rencontrée dans des sirops de betterave.

C'est un long Bacille de 4 à 5 μ, mobile, possédant des spores endogènes, restant coloré à la méthode de Gram.

Sur gélatine, il donne une culture un peu jaunâtre et liquéfie lentement.

Sur gélose, il donne une bande jaunâtre et développe une odeur d'acétamide.

Sur pomme de terre, la culture est très rapide, et se colore en jaune intense.

Il est sans action sur les animaux.

BACILLUS FLAVUS.

J'ai rencontré dans plusieurs eaux de boisson une Bactérie jaune se distinguant facilement de la précédente par l'aspect de ses cultures et surtout par la liquéfaction de la gélatine, qu'elle occasionne assez rapidement.

Les bâtonnets, qui sont immobiles, mesurent de 1,8 μ à 2 μ de long sur 0,45 μ de large.

En cultures sur plaques, les colonies bien développées sont des disques irrégulièrement lobés, jaune brunâtre avec des reflets verdâtres, situés au fond d'un entonnoir de liquéfaction assez profond. Ces colonies sont très visqueuses ; elles s'enlèvent d'un seul bloc.

En piqûre, la gélatine est assez vite liquéfiée dans une bonne partie de sa hauteur. Le liquide est absolument clair ; il est recouvert d'une peau épaisse, floconneuse, d'un beau jaune d'or, et a laissé déposer un sédiment plus léger et plus terne.

Sur gélose, la culture est assez épaisse, muqueuse, un peu coulante.

Sur pomme de terre, c'est une membrane moyennement épaisse, jaune d'or.

Les cultures développent une faible odeur fade.

BACILLUS SYNXANTHUS Ehrenberg.

(*Vibrio synxanthus*, *Bacterium xanthinum*.)

L'espèce a été donnée par Ehrenberg comme la cause d'une coloration jaune du lait cuit, s'observant assez fréquemment dans certaines régions. Elle a été étudiée depuis par Schroeter (4).

(1) Dobrzyniecki, Zwei chromogen Mikroorganismen der Mundhöhle (*Centralbl. für Bakt*., XXI, 1897, p. 833).

(2) Rodsewitsch, Ein neuer pigmentbildender Saprophyt (*Wratch*, 1897, n° 15, p. 436).

(3) Smith et Baker, Bacillus luteus sporogenes (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., IV, 1898, p. 788).

(4) Schroeter, Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente (*Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, I, 2e p., p. 120).

Ce sont de courts bâtonnets minces, doués d'une vive motilité. Ils se cultivent très bien dans le lait cuit, qu'ils teignent rapidement en jaune d'or. La caséine est précipitée, puis dissoute ; le lait devient fortement alcalin.

La matière colorante est insoluble dans l'alcool et l'éther. Elle serait, d'après Schroeter, soluble dans l'eau. Le liquide de culture filtré est jaune-citron avec une légère teinte verte. Les alcalis ne font pas varier la couleur ; les acides, même en faibles proportions, la détruisent.

Il existe certainement un assez grand nombre d'espèces produisant des pigments jaunes ; leur différenciation est à établir d'une façon plus précise.

BACILLUS BRUNNEUS Schroeter.

Schroeter (1) a donné ce nom à une Bactérie produisant une matière colorante brune dans une infusion de maïs putréfiée.

Flügge (2) en rapproche, sous le nom de *Bacillus fuscus*, une Bactérie qu'il ne décrit que d'une manière très incomplète. Le principal caractère qu'il signale est la présence autour des colonies de cultures sur plaques d'une auréole brune.

Adametz (3) décrit, sous le nom de *Brauner Pigment bildender Wasserbacillus*, une autre Bactérie de l'eau produisant un pigment brun. Ce sont de petits bâtonnets immobiles, qui contiennent souvent des spores.

En cultures sur plaques de gélatine, les colonies sont d'un blanc sale, muqueuses, filantes même ; elles ne croissent que lentement. Après un temps assez long, dix à quatorze jours, elles s'entourent d'une auréole brune. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur gélose ou sur gélatine, la culture forme une colonie blanche, muqueuse, autour de laquelle la gelée se colore en brun.

BACILLUS FERRUGINEUS Rullmann.

Rullmann (4) décrit sous ce nom un Bacille qu'il a isolé de l'eau.

En cultures sur plaques de gélatine, il donne des colonies brunâtres qui liquéfient rapidement et forment un dépôt couleur de rouille.

Sur gélose, sur sérum et sur pomme de terre, il forme une épaisse colonie couleur de rouille.

En piqûre, la gélatine est rapidement liquéfiée et colorée en brun foncé.

Les éléments sont des bâtonnets très mobiles de 1,5 à 2,2 μ de long sur 0,5 à 0,8 de large. Dans la solution de Winogradsky, à 30°, ils paraissent être encapsulés.

La matière colorante est très peu soluble dans l'eau et l'alcool, un peu plus dans l'alcool acide ou alcalin ; tout à fait insoluble dans la benzine et l'éther de pétrole, soluble dans l'acétone.

Les cultures n'ont montré aucune action pathogène pour les souris.

(1) Schroeter, *loc. cit.*
(2) Flügge, Die Microorganismen.
(3) Adametz, Die Bacterien der Trink und Nutzwasser, 1888.
(4) Rullmann, Ueber einen neuen Chromogenen Bacillus aus Städtischen Kanalwasser (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 465).

Il n'y a peut-être pas lieu d'en distinguer le *Bacillus rubiginosus* décrit par Catiano (1) dans la sécrétion vaginale.

BACILLUS PRODIGIOSUS Ehrenberg.

(*Micrococcus prodigiosus*, Voy. p. 433.)

Cette espèce est fréquente dans l'air ; on la trouve souvent comme impureté sur les cultures sur plaques. Elle s'observe souvent sur les matières amylacées ou le blanc d'œuf cuit, sur bien des aliments exposés à l'air. Les colonies formées sur ces milieux apparaissent comme de petites taches rosées, fonçant rapidement en couleur et devenant rouge-sang. Sur le blanc d'œuf ou l'amidon cuits, leurs bords nettement tranchés, leur consistance visqueuse, leur donnent l'aspect de gouttelettes d'huile. Elle est également commune dans l'eau et le sol.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les éléments sont tantôt régulièrement sphériques, tantôt ovales ou elliptiques, tantôt en forme de courts bâtonnets ; ils mesurent de 0,5 μ à 1 μ de plus grand diamètre. La tendance à donner de courts bâtonnets est plus marquée dans certaines cultures ; ce qui a fait que ce microbe, longtemps rangé dans les Coccacées sous le nom de *Micrococcus prodigiosus*, est actuellement réuni au genre *Bacillus*, sous le nom de *Bacillus prodigiosus*, si ces formes allongées, observées surtout dans les bouillons faiblement acides, ne doivent pas être considérées comme des dégénérescences, dues à un changement de milieu (2).

En culture dans des liquides, elles présentent une motilité très nette; sur les milieux solides, au contraire, elles paraissent tout à fait immobiles. La mobilité serait due, d'après Scheurlen (3), à la présence de quatre à huit cils vibratiles que la méthode de coloration de Loeffler permet de déceler sur tout le pourtour des éléments.

On n'observe jamais de production de spores.

Coloration. — Ce microbe se colore bien, quoique faiblement, aux colorants ordinaires. Il se *décolore* par la méthode de Gram.

Cultures. — Le *Bacillus prodigiosus* croît facilement sur les différents milieux nutritifs. Il végète surtout bien en aérobie, mais aussi, quoique plus lentement, en anaérobie, sans jamais alors donner de pigment.

Son optimum de température paraît être de 23° à 25°. A 35° et au-dessus, la production de pigment se ralentit et cesse bientôt. Cultivé longtemps à ces températures, le microbe perd définitivement sa fonction chromogène.

Le *bouillon* se trouble rapidement et prend une coloration rosée qui

(1) Catiano, Ueber zwei fadenbildende Bakterien (*Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, VII, 1896, p. 537).

(2) Wasserzug, Variations durables de la forme et de la fonction chez les Bactéries (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, II, 1888, p. 133).

(3) Scheurlen, Geschichtliche und experimentelle Studien über den Prodigiosus (*Arch. für Hygiene*, 1896, XXVI, p. 1).

n'est souvent marquée que dans la partie supérieure, formant un petit liséré superficiel. Les cultures âgées sont un peu visqueuses.

Sur *plaques de gélatine*, il donne, en vingt-quatre heures, à 20°, de petites colonies arrondies, granuleuses, grisâtres, qui, arrivées à la surface, après peu de temps, s'étalent en un disque de couleur rosée au centre. La colonie s'enfonce dans la gélatine et se colore en rouge, puis s'entoure d'un anneau de gélatine liquéfiée. La liquéfaction progresse rapidement : après une demi-journée, toute la plaque est liquéfiée. Le liquide a une teinte rosée. Si la surface de la couche de gélatine se dessèche un peu, la liquéfaction s'arrête, la colonie forme alors un bouton rose rouge foncé, situé au fond d'une légère dépression.

En *piqûre* dans la *gélatine*, il liquéfie d'ordinaire très rapidement ce milieu. La cupule de liquéfaction est très nette en douze heures ; elle a beaucoup grandi en vingt-quatre heures et s'est étendue dans toute la longueur de la piqûre. La gélatine liquéfiée est trouble et à la pointe de l'entonnoir se trouve une petite masse floconneuse rouge-sang. La liquéfaction continue et, au bout de quelques jours, toute la gelée est devenue liquide. Dès que ce changement s'est opéré sur une certaine longueur, la partie liquéfiée est très trouble : au fond on trouve un épais sédiment rouge foncé; à la surface nagent souvent des flocons de même couleur. Le liquide est coloré en rose rouge, dans sa partie supérieure au moins.

Sur *gélose*, en strie, on obtient de larges bandes muqueuses, rosées, qui deviennent rouge-sang en vieillissant et offrent souvent des reflets métalliques. Si la gelée se dessèche, l'espèce semble se développer moins abondamment ; elle ne forme pas d'ordinaire de membrane plissée, mais une couche glaireuse épaisse dont les parties supérieures, en contact immédiat avec l'air, sont seules fortement colorées.

Sur *pomme de terre*, la végétation est abondante; elle donne, en vingt-quatre heures, une couche blanc rosé qui grandit et forme en peu de temps une pellicule muqueuse, épaisse, colorée en rouge-sang, dont la surface se fonce considérablement par l'âge et peut même montrer en certains endroits des reflets d'un vert-métallique ressemblant à ceux de la fuchsine.

Le *sérum* est liquéfié peu à peu ; avant, la culture prend les caractères de celle sur gélose.

Cultivé dans du *lait*, il produit la coagulation de la caséine, sans amener de changements plus profonds, même après un long temps ; le coagulum pourrait se dissoudre, d'après Hüppe. Dans la nature, le lait où se développe ce microbe se colore en rouge par taches, surtout sur la couche de crème qui se forme par le repos. D'après Gorini (1), la coagulation du lait serait également déterminée par les cultures filtrées, dues par conséquent à un ferment dissous.

Propriétés biologiques.

La plupart des cultures, surtout les cultures sur pomme de terre, dégagent de l'ammoniaque et une forte odeur de triméthylamine.

Ce microbe produirait des traces d'indol, pas d'hydrogène sulfuré.

(1) Gorini, Studi sperimentali sull latte. Rome. 1892.

Dans les *milieux sucrés*, il formerait une quantité très minime d'alcool et parfois dégagerait des gaz, surtout en cultures anaérobies, d'après Liborius (1), pas du tout d'après Ritter (2).

C'est un ferment peu énergique de l'urée.

Il résiste peu à la chaleur ; une température de 60 à 80° tue tous les éléments ; il supporte cependant sans périr une longue dessiccation.

Pigment. — La particularité la plus intéressante du *Bacillus prodigiosus* est sans contredit la production de la matière colorante. D'après Schottelius (3), la matière colorante se trouve exclusivement dans l'intérieur des cellules dont elle imprègne uniformément le protoplasma. Après la mort, elle diffuse autour de la cellule et vient former des granulations plus ou moins grosses. Cependant, dans un grand nombre de cultures, j'ai observé, entre les cellules bien évidemment vivantes, des amas de granulations de taille variable, tantôt plus petites, tantôt beaucoup plus grosses que les coccus, de forme ronde ou irrégulière, et colorées en rouge-rubis très brillant. Ce sont peut-être des formes de dégénérescence, peu vivantes ou mortes, qui s'imprègnent de pigment. Le pigment ne se forme qu'en présence d'oxygène : les colonies développées dans les couches profondes de la gélatine ou sous une couche d'huile restent blanches.

La matière colorante est insoluble dans l'eau et légèrement soluble dans l'alcool et l'éther en donnant une liqueur rouge légèrement jaunâtre. La solution montre au spectroscope deux bandes caractéristiques, une forte dans le vert et une plus faible dans le bleu. Les acides la font passer au carmin, puis au violet ; les alcalis la rendent jaunâtre. Avec le zinc et l'acide chlorhydrique, les solutions se décolorent complètement. L'addition d'acide fait reparaître la couleur. La lumière décolore très vite les solutions alcooliques qui, maintenues à l'obscurité, conservent pendant des années leur puissance colorante.

Dans une suite de cultures, la production du pigment diminue, de telle sorte qu'après un certain nombre de générations on n'obtient plus que des cultures rosées ou brunâtres, puis tout à fait blanches. La propriété de produire du pigment peut même se perdre complètement sous des influences défavorables ; on obtient de véritables races achromogènes.

Cette Bactérie ne semble pas avoir de propriétés pathogènes.

Les cultures contiennent cependant une toxalbumine active ; mais il faut de très fortes doses pour tuer les animaux d'expérience. Les produits de sécrétion peuvent cependant affaiblir l'organisme et le prédisposer à une infection ; ainsi, Roger (4) a observé que l'injection de produits solubles de cette espèce rendait possible, chez le lapin, l'infection par le charbon symptomatique, auquel il est réfractaire dans les conditions ordinaires.

(1) Liborius, *Zeitschr. für Hygiene*, I, 1886, p. 115.

(2) Ritter, Zur Physiologie des Bacillus prodigiosus (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., VI, 1900, p. 206).

(3) Schottelius, Biologische Untersuchungen über den Micrococcus prodigiosus. Leipzig, 1887.

(4) Roger, Sur l'inoculation du charbon symptomatique au lapin (*Soc. de Biol.*, 1889).

Habitat et rôle dans la nature.

L'espèce vient fréquemment contaminer les substances alimentaires. Elle se développe très bien sur le pain, où elle forme de larges taches diffuses d'un rouge de sang ; on l'a vu envahir des boulangeries entières; à Paris, en 1843, de grandes provisions de pain provenant des boulangeries militaires ont présenté des taches rouges dues à cette cause. On lui attribue aussi le phénomène ancien des hosties saignantes. Prillieux (1) a signalé une altération des grains de blé due à une Bactérie qui est probablement le *Bacillus prodigiosus*. Ce parasite arrive à détruire la plus grande partie du grain ; l'attaque commence par les grains d'amidon ; la matière azotée et la cellulose sont consommées en dernier lieu. La cellulose se gélifie avant d'être absorbée. On l'a vu envahir des viandes cuites. C'est une espèce commune dans l'eau ; sa présence ne paraît pas avoir une bonne signification.

La coloration rouge de certaines sécrétions doit, dans plusieurs cas, être attribuée au développement de ce microbe. Il faut probablement lui rapporter une partie des phénomènes de sueurs rouges, de salive rouge, de lait rouge, encore trop peu étudiés. Le *Micrococcus hæmatodes* (p. 406) est peut-être à rapprocher de cette espèce.

Le *Microbe rouge de la sardine*, décrit par Dubois Saint-Sévrin (2), en est aussi bien voisin. Il ne paraît guère se différencier du *Bacillus prodigiosus* que par la solubilité du pigment dans l'eau et la viscosité plus grande des cultures.

D'après Santori (3), une Bactérie rouge pourrait occasionner une affection septicémique des volailles, très meurtrière, rappelant le choléra des poules.

Les éléments sont ovalaires ou en forme de courts Bacilles ; ils ont des mouvements bien nets.

Les cultures ressemblent beaucoup à celles du *Bacillus prodigiosus*. Elles s'en distinguent surtout par leur pouvoir pathogène. L'inoculation sous-cutanée tue assez vite le rat blanc, le cobaye, le lapin et le poulet. La virulence se conserve assez longtemps.

A rapprocher peut-être le *Bacille rouge pathogène* trouvé dans du pus par Thévenin (4), qui tue les cobayes, les lapins, les rats et les souris, mais se montre dépourvu de virulence pour les poules et les pigeons.

BACILLE ROUGE DE KIEL Breunig.

Breunig (5) a rencontré une très belle espèce dans les eaux de la

(1) Prillieux, Corrosion de grains de blé colorés en rose par des Bactéries (*Bull. de la Soc. bot.*, 1874, p. 31).

(2) Dubois Saint-Sévrin, Panaris des pêcheurs et microbe rouge de la sardine (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1894, VIII, p. 152).

(3) Santori, Su di una nuova forma di setticemia sin supportasi di alcuni pollai di Roma causata da una cocco-batterio chromogeno (*Ann. d'Ig. sper.*, VI, 1896, p. 159).

(4) Thévenin, Contribution à l'étude des Bactéries chromogènes. Recherches sur un Bacille rouge pathogène. Thèse de Toulouse, 1898.

(5) Breunig, Bacteriologische Untersuchungen Trinkwassers der Stadt Kiel. Thèse inaug., Kiel, 1888.

ville de Kiel ; elle est désignée d'ordinaire sous le nom de *Bacille rouge de Kiel* (1).

Ce microbe est un Bacille vrai dont les éléments ont une longueur qui varie de 3 à 5 μ et une largeur de 0,7 à 0,8 μ et sont médiocrement mobiles. Les vieilles cultures sur pomme de terre renferment des éléments de 8 et 10 μ.

En cultures sur *plaques de gélatine*, les colonies profondes sont jaunâtres, rondes ; les superficielles s'étalent et liquéfient vite en prenant une teinte rose.

Sur *gélatine*, en piqûre, il se forme dans la piqûre de petites colonies blanchâtres et à la surface une tache rouge-sang. Le gelée ne tarde pas à se liquéfier ; le liquide est fortement coloré. Dans la profondeur du tube, il se produit souvent des bulles de gaz.

Sur *gélose*, il se développe une colonie rose pâle qui devient d'un rouge foncé brillant, semblable à de la cire à cacheter, présentant des reflets métalliques. Avec l'âge, la nuance devient brunâtre.

Sur *pomme de terre*, le développement est très rapide à 30° ; la surface se recouvre, en un jour, d'une colonie d'un rouge-pourpre violacé.

Le *bouillon* est fortement troublé en vingt-quatre heures et se colore en rose. Les bouillons auxquels on ajoute de minimes quantités d'acide tartrique, de 1 p. 10 000 à 1 p. 1 000, mais seulement d'une façon graduelle, peuvent être fortement colorés.

La matière colorante de cette Bactérie est soluble dans l'eau, plus soluble dans les alcools éthylique et méthylique, peu soluble dans la benzine, insoluble dans l'essence de térébenthine, le chloroforme, le sulfure de carbone, l'alcool amylique. L'éther sulfurique décolore ce pigment, mais cette action cesse dès que l'on ajoute au mélange quelques gouttes d'acide chlorhydrique.

Les acides, à petites doses, avivent la nuance ; les alcalis la détruisent, mais elle réapparaît par neutralisation. Le zinc et l'acide chlorhydrique la laisseraient subsister.

La coloration n'apparaît qu'en présence d'oxygène. A l'abri de l'air, le microbe se développe lentement, mais donne des colonies incolores.

BACILLUS ROSACEUS METALLOIDES Dowdeswell.

C'est une Bactérie qui a été étudiée par Dowdeswell (2) sans que cet auteur ait indiqué où elle avait été trouvée. Elle paraît être identique au *Bacillus miniaceus* de Zimmermann (3). Je l'ai rencontrée fréquemment dans diverses eaux des terrains siliceux des Vosges, jamais jusqu'ici dans les eaux des régions calcaires.

Les éléments pris dans des cultures en pleine activité sont de courts bâtonnets de 1,5 μ de long sur 0,7 μ de large environ, toujours immobiles.

Sur *plaques de gélatine*, les colonies de la surface, d'abord incolores

(1) Laurent, Études sur la variabilité du Bacille rouge de Kiel (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1890, nº 8).

(2) Dowdeswell, Sur une nouvelle espèce de microbe chromogène, le *Bacterium rosaceum metalloides* (*Ann. de micr.*, 1889).

(3) Zimmermann, Die Bacterien unserer Trink und Nutzwässer. Chemnitz, 1890.

ou grisâtres, se colorent peu à peu et forment de petits boutons proéminents d'un rouge carminé très vif. La liquéfaction de la gelée n'a pas le temps de se produire; tout au plus, voit-on la colonie s'enfoncer un peu dans la gelée.

En *strie* sur la *gélatine*, ce microbe se développe rapidement. La coloration rouge apparaît en vingt-quatre heures; en quelques jours, la colonie, qui est déjà de bonnes dimensions, prend l'état métallique spécial (1). Le développement continue jusqu'à ce que la colonie ait atteint 3 ou 4 millimètres de largeur. Après un mois ou six semaines, la colonie cesse de s'étendre et liquéfie peu à peu la gelée ; le liquide est clair et incolore. En piqûre, la liquéfaction est un peu plus rapide.

Sur *gélose*, la colonie se développe moins vite que sur la gélatine; sa couleur est plus pâle, ne prend pas facilement de reflets métalliques. Sur *gélose glycérinée*, la teinte est encore plus pâle, rosée.

Sur *pomme de terre*, la culture forme, en très peu de temps, une couche dense, épaisse, très colorée, montrant des reflets métalliques très beaux.

Dans le *bouillon*, cette Bactérie se développe vigoureusement, mais sans présenter de coloration.

La température la plus favorable à cette espèce est de 15° environ; à l'étuve à 35°, les cultures ne se développent plus dans les milieux liquides et très peu sur les solides. Une température de 60° tue tous les éléments.

C'est un microbe énergiquement aérobie; il végète cependant en présence de très minimes quantités d'oxygène. Il ne paraît avoir aucune propriété de ferment ou pathogène.

La matière colorante est presque insoluble dans l'eau froide ou bouillante, facilement soluble dans l'alcool, insoluble dans le chloroforme, la benzine, les acides concentrés. Au spectroscope, il y a transmission complète du rouge, de l'orangé et du jaune, puis extinction absolue de toute lumière. A une épaisseur minime, 1 ou 2 millimètres, il passe quelques rayons bleus.

BACILLES ROUGES DIVERS.

Frank (2) a rencontré sur du riz cuit exposé à l'air un Bacille qu'il a nommé *Bacillus ruber*.

Les bâtonnets ont de 5 μ à 8 μ de long et à peine 1 μ de large; ils sont isolés ou réunis par deux ou quatre, et vivement mobiles.

Ils produisent un pigment rouge-brique.

Lustig (3) a décrit une intéressante espèce rouge qu'il a rencontrée dans l'eau de rivière (*Bacille rouge de l'eau*, de Lustig).

Ce sont de minces bâtonnets de 1,8 μ à 3 μ de long, très mobiles, montrant souvent à leurs pôles des granulations d'un rouge sombre. Dans certaines cultures, le bouillon principalement, on trouve de longs filaments.

(1) J'ai signalé depuis longtemps (*Traité pratique de bactériologie*, 1re édit.), la tendance de certaines cultures de *Micrococcus prodigiosus* à prendre ces reflets métalliques.

(2) Frank, *Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, I, 3e p., p. 181.

(3) Lustig, Ein rother Bacillus in Flusswasser (*Centralbl. für Bakt.*, 1890, VIII, p. 33).

En culture sur *plaques de gélatine*, on aperçoit à l'œil nu les colonies de la surface, après quarante-huit heures, comme de petits points grisâtres avec le centre rouge ; à un faible grossissement, ces colonies ont des bords sinueux, une teinte jaune rougeâtre et une partie centrale rose-carmin. Puis, ces colonies s'étendent, leurs bords deviennent irréguliers, la coloration rouge augmente et gagne la périphérie, la gélatine se ramollit et la colonie s'enfonce dans un entonnoir de liquéfaction. Les colonies profondes liquéfient plus tôt la gélatine.

En piqûre sur *gélatine*, il se forme, en quatre ou cinq jours, un fort entonnoir de liquéfaction contenant un liquide rouge foncé. Tout le tube finit par être complètement liquéfié ; le liquide, rouge sombre, a une consistance visqueuse.

Sur *gélose*, la culture recouvre en quelques jours toute la surface de la gelée ; elle ressemble à une couche de cire à cacheter rouge.

Sur pomme de terre, la culture, qui s'étend rapidement, reste grisâtre.

Dans le *bouillon*, le développement se fait très vite, mais il ne se produit pas de matière colorante.

Dans le *lait*, la surface est colorée en rouge en vingt-quatre heures ; la caséine est complètement précipitée en deux jours.

Les cultures semblent être pathogènes pour les lapins à fortes doses. Les animaux qui succombent n'offrent aucune lésion spéciale.

La matière colorante, d'un violet rouge foncé, est insoluble dans l'eau, soluble dans l'acide acétique et l'alcool, dans la benzine, l'éther, le chloroforme, le sulfure de carbone. Les alcalis concentrés la jaunissent ; l'acide sulfurique concentré la fait virer au violet sale.

Eiselsberg (1) décrit un bacille rouge de l'eau qui se rapproche beaucoup de celui-ci. La matière colorante qu'il produit est d'un brun rouge et, de plus, il ne croît que très lentement et jamais en l'absence d'oxygène.

Auché (2) a observé sur des sardines altérées et colorées en rouge un Bacille spécial qu'il nomme *Cocco-Bacille rouge de la sardine*. Il paraît identique au *Microbe rouge* de la sardine de Dubois Saint-Sévrin (p. 934), et ne se distingue du *Bacillus prodigiosus* que par la consistance filante de ses cultures sur gélose, que l'on peut du reste remarquer chez ce dernier microbe, et la solubilité dans l'eau de la matière colorante.

Le Dantec (3) a isolé de morue salée présentant l'altération connue sous le nom de *morue rouge*, un Bacille rouge (*Bacille rouge de Terre-Neuve*) qui paraît devoir être distingué des précédents. Pour l'isoler du produit, il conseille d'enfermer dans un tube de verre effilé très fin une parcelle de la glaire rouge se trouvant sur la viande, dissociée dans de l'eau stérilisée, et de plonger le tout dans de l'eau à 95° pendant une minute, puis de semer sur plaques de gélatine.

(1) Eiselsberg, Bakteriologische Diagnostik.
(2) Auché, Sur le Cocco-Bacille rouge de la sardine (*Soc. de Biol.*, 13 janvier 1894).
(3) Le Dantec, Étude de la morue rouge (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V, 1891, p. 656).

Les bâtonnets, pris sur de la morue, ont de 4 à 10 μ, quelquefois plus; ils sont mobiles et présentent presque toujours une spore brillante à une extrémité.

Sur plaques de gélatine, les colonies forment de petits disques d'un rouge pâle au centre, d'un rouge plus foncé à la périphérie ; elles liquéfient très lentement.

Sur gélatine, en piqûre, il se forme très lentement un petit entonnoir de liquéfaction; en strie, il se produit d'abord une traînée d'un rouge intense, puis la liquéfaction apparaît très lentement. Quand la gélatine est préparée depuis un certain temps, elle ne subit plus la liquéfaction.

Sur gélose, on obtient une strie rouge.

Dans le bouillon, le trouble apparaît vite, mais il ne se produit pas de pigment.

La pomme de terre est un mauvais terrain de culture.

La chair de morue rougit vite, surtout sur le côté qui a été exposé au sel; la chair cuite rougit moins que la crue.

Le pigment se forme bien mieux, dans toutes les cultures, vers 10° à 15° qu'à l'étuve.

Le microbe s'est toujours montré inoffensif pour les animaux d'expérience, en ingestion et en inoculations sous-cutanées ou intrapéritonéales.

A côté de lui, Le Dantec a isolé un Microcoque rouge de 3 μ à 5 μ de diamètre, ne liquéfiant pas la gélatine, aussi inoffensif.

La morue simplement altérée par le rouge ne paraît donc pas toxique. Les accidents observés sont certainement dus à des processus de putréfaction s'installant à côté de l'altération rouge.

Bœkhout et de Vries (1) décrivent sous le nom de *Bacillus fuchsinus* un Bacille rouge qu'ils ont isolé de l'eau.

C'est un Bacille immobile, long de 1 à 1,5 μ et large de moitié.

Sur gélatine, il forme en dix-huit heures une culture rouge clair et liquéfie assez vite ; le liquide prend une teinte framboise.

Sur gélose, la colonie est rouge-carmin sans reflets métalliques.

Sur pomme de terre, la culture est d'abord rouge pâle, puis rouge-brique et prend en deux jours des reflets bronzés.

Le lait est coagulé, puis le caillot est dissous.

Le microbe se développe un peu en anaérobie, mais ne produit pas de pigment.

La matière colorante est soluble dans l'alcool, le chloroforme, le sulfure de carbone, moins bien dans l'éther et très peu dans l'eau. Les alcalis font passer les solutions au jaune ; les acides ramènent la nuance rouge violacé.

Beauregard (2) décrit un Bacille rouge-vermillon de 1 à 1 μ 5 de long qui ne liquéfie pas la gélatine et est peut-être à rapprocher du *Micrococcus cinnabareus*.

(1) Bœkhout et de Vries, Ueber einen neuen chromogenen Bacillus (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., IV, 1898, p. 497).

(2) Beauregard, Note sur un nouveau Bacille chromogène (*Soc. de Biol.*, 2 juillet 1898).

BACILLUS LACTIS ERYTHROGENES Hueppe.

Cette espèce se développe spontanément dans le lait qu'elle peut colorer entièrement en rouge, lui donnant même parfois l'aspect du sang (1).

Les éléments sont de courts bâtonnets immobiles qui se colorent facilement à l'aide des couleurs d'aniline.

On en obtient facilement des cultures sur les milieux habituels. La gélatine est lentement liquéfiée; la culture prend une teinte jaune; la partie de milieu qui l'entoure se colore en rose.

Sur gélose et sur pomme de terre, la culture est jaunâtre.

Ensemencée dans le lait stérilisé, cette Bactérie détermine la précipitation lente de la caséine; il se forme en même temps un pigment rouge foncé qui teint tout le liquide au bout de quelque temps. Ce pigment n'apparaît que lentement à la lumière; il donne une teinte très foncée aux cultures faites à l'obscurité et ne se forme que dans les milieux qui ont une réaction alcaline ou neutre. Il est insoluble dans l'eau, l'alcool, l'éther et le chloroforme. A l'examen spectroscopique, il montre deux bandes noires entre les lignes D et E, et une autre dans le bleu.

BACILLUS ERYTHROSPORUS Cohn.

C'est une Bactérie de l'air, qui y serait même très commune, d'après certains observateurs. Elle se rencontrerait aussi dans l'eau.

Elle a été rencontrée par Cohn et Mifflet (2) dans du bouillon où avait barboté de l'air.

Ce sont de minces Bacilles à extrémités arrondies, mobiles. Ils donnent souvent de longs filaments qui, à un moment donné, se segmentent en articles produisant chacun une spore. Ces spores sont ovales-elliptiques, parfois un peu courbées, très brillantes et colorées en rouge sale.

Cultivée dans le bouillon, cette espèce y forme, à la surface, de petites écailles libres, non réunies en un voile complet; d'abord blanchâtres, elles se colorent au centre en rouge brun, phénomène dû à l'apparition des spores dans les cellules. La culture développe une odeur spermatique intense.

En culture sur plaques, elle donne des colonies blanchâtres, profondément lobées, plissées, qui, vues au microscope, ont un centre brun entouré d'une zone périphérique moins opaque, jaune verdâtre; la surface présente une striation radiaire; la gelée environnante prend une teinte verdâtre. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Dans un tube de gélatine, en piqûre, il se développe, dans le canal et surtout à la surface, une culture blanchâtre; la gelée se colore en vert ou en jaune brun, sans se liquéfier.

(1) Grotenfelt, Studien über Zersetzung der Milch. I Der rothe Milch (*Fortschr. der Med.*, 1889, n° 2, p. 41). — Baginski, Zum Grotenfelt'schen Bacillus der rothen Milch (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1889, n° 11).

(2) Mifflet, Untersuchungen über die in der Luft suspendirten Bacterien (*Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, III, 1re p., p. 119, 1879).

Sur pomme de terre, on obtient une couche peu étendue, d'abord rougeâtre puis brune.

On ne lui connaît aucune action physiologique intéressante. Elle a été retrouvée depuis dans des liquides de putréfaction de substances animales ou végétales.

BACILLUS MELANOSPORUS Eidam.

C'est encore une espèce de l'air qui a été trouvée par Eidam (1) sur des pommes de terre cuites abandonnées à l'air. Elle y forme une fine pellicule ridée gris sale, puis gris ardoisé, enfin noir foncé. La teinte noire pénètre assez profondément dans le substratum, en devenant plus pâle. L'acide chlorhydrique, l'acide acétique, l'ammoniaque, une solution de potasse, n'ont pas d'action sur la couleur; l'eau ni l'alcool ne peuvent la dissoudre. D'après Eidam, la coloration serait due à des corpuscules noirs, amorphes, que l'on trouve épars entre les Bactéries, dans le milieu nutritif.

BACILLUS MESENTERICUS NIGER.

Biehl (2) et Lunt (3) l'ont isolé en même temps; le premier, à Kiel, comme impureté de l'air, sur du pain ; le second, à Londres, de l'eau, à l'aide de la méthode de Barietti.

Ce sont des bâtonnets à extrémités arrondies, de 2,8 à 3,6 μ de long sur 0,8 μ de large, isolés ou réunis par deux, rarement plus. Ils ont un mouvement très vif.

Dans les cultures âgées, on trouve des spores ovales, situées au milieu des bâtonnets, de 1,2 à 1,3 μ de long, sur 0,7 de large.

Les bâtonnets se colorent bien aux méthodes ordinaires et restent colorés par la méthode de Gram.

Ces microbes se cultivent bien sur les milieux habituels sans fournir de caractères particuliers sur la plupart d'entre eux; sur pomme de terre et sur gélatine au moût de bière, ils donnent un pigment brun ou noirâtre C'est un aérobie exclusif, qui présente son optimum de développement vers 37-40 degrés.

Sur *plaques de gélatine*, les jeunes colonies sont grisâtres, granuleuses, émettant à leur bord de nombreux prolongements souvent spiralés. En grandissant, elles foncent en couleur et pénètrent graduellement dans la gelée qui se liquéfie rapidement.

En piqûre sur *gélatine*, la liquéfaction est rapide. Le liquide est grisâtre, trouble, et présente une fine pellicule à la surface. Sur gélatine au moût de bière ou au suc de pomme de terre, le liquide se colore en brun.

Sur *gélose*, il se forme une pellicule jaune brunâtre, plissée. La gelée se colore en brun plus ou moins foncé. La coloration est plus forte sur gélose glucosée.

(1) Eidam, Die Einwirkung verschiedener Temperaturen und der Eintrocknens auf die Entwickelung von Bacterium termo (*Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, I, 3e p., 1875).

(2) Biehl, Ueber einen schwarzen Pigment bildenden Kartoffelbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., II, 1896, p. 137).

(3) Lunt, On Bacillus mesentericus niger, a new Potatoe Bacillus (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., II, 1896, p. 572).

Sur *pomme de terre*, la culture envahit vite toute la surface ; elle y forme une couche humide, fortement plissée, d'abord grisâtre, puis d'un brun noirâtre. La substance de la pomme de terre devient noire à son tour.

Sur le *bouillon*, il se forme un voile jaunâtre, plissé ; le liquide s'éclaircit vite.

Le *lait* se coagule en vingt-quatre à trente-six heures à 37° ; la caséine se redissout ensuite presque complètement. Le liquide est un peu amer et donne la réaction du biuret.

Le pigment noir ne peut s'extraire par aucun des réactifs à employer.

Le microbe se montre complètement dépourvu de propriétés pathogènes pour les animaux d'expérience.

Tous les caractères rapprochent cette espèce des *Bacilles de la pomme de terre* ordinaire, *Bacillus mesentericus vulgatus* et surtout peut-être *Bacillus mesentericus fuscus*.

Le microbe nommé *Bacillus lactis niger* par Gorini (1) ne s'en distinguerait que par l'absence des plis dans les colonies.

ESPÈCES FERMENTS OU SAPROPHYTES

BACILLUS ACETI Kutzing.

Les liquides alcooliques exposés à l'air donnent très facilement du vinaigre. Le fait est connu de toute antiquité. On doit à Pasteur (2) d'avoir nettement prouvé que l'oxydation de l'alcool et sa transformation en acide acétique, dans ces conditions, sont dues au développement dans le liquide d'un être organisé et en rapport intime avec sa vie, de telle sorte que la *fermentation* s'amoindrit et disparaît avec elle.

Ce *ferment acétique* est une Bactérie, qui ne se développe qu'en présence d'oxygène ; c'est une espèce aérobie vraie. Sa croissance, dans les liquides, où on l'observe naturellement et où elle détermine le processus chimique qui lui est spécial, est caractéristique ; elle y forme des voiles superficiels souvent épais, visqueux, connus de tous sous le nom de *mère de vinaigre*.

Ce n'est point à une seule espèce qu'est dévolue cette curieuse propriété, utilisée pour l'obtention du vinaigre ; plusieurs au contraire la possèdent, qui l'ont à des degrés divers, et peuvent servir aux mêmes usages. Leur distinction n'est encore qu'ébauchée et réclame de nouvelles recherches.

Le *ferment acétique* de Pasteur est formé de bâtonnets courts et gros, un peu étranglés en sablier, mesurant 3 μ au moins de long et 1,5 μ de large, associés en grand nombre en longs chapelets sinueux. En se développant à la surface de liquides alcooliques, naturels ou artificiels, ils y produisent un voile uniforme velouté, dont l'apparition est très rapide ; en vingt-quatre heures, une étendue d'un mètre carré, au moins, peut être recouverte d'une membrane transparente, très mince. La gelée qui retient les éléments ne se colore pas en bleu par l'iode.

Duclaux (3) en décrit un autre qui forme un voile sec, fin, ne se

(1) Gorini, Ueber die Schwarzenpigmentbildenden Bakterien (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 94).

(2) Pasteur, Mémoire sur la fermentation acétique (*Ann. de l'École norm. sup.*, I, 1864).

(3) Duclaux, Chimie biologique, p. 505.

plissant pas, mais se recouvrant d'ondulations croisées, à arêtes vives, qui rappellent la surface d'un gâteau de miel.

Dans une série de recherches sur des mères de vinaigre ménagères, dès 1888 (1), j'ai observé constamment une même forme, qui me paraît distincte de celle de Pasteur; c'est probablement le microbe auquel Brown a donné, bien après, le nom de *Bacterium xylinum*. J'en ai obtenu des cultures pures sur des milieux liquides et aussi sur les milieux solides ordinaires. Ces cultures pures ont pu reproduire, par ensemencement sur des liquides alcooliques, des mères identiques comme aspect aux premières et une fermentation acétique normale et régulière.

La *mère* de cette Bactérie, bien développée, est une peau épaisse, blanchâtre ou légèrement rosée lorsqu'on la cultive dans le vin ou les jus de fruits rouges, jamais plissée, atteignant facilement 2 ou 3 millimètres d'épaisseur; elle est visqueuse au toucher et présente une consistance assez forte, presque cartilagineuse. Elle renferme, noyés dans une substance fondamentale incolore ou faiblement granuleuse, de très nombreux bâtonnets de 3,2 μ de long sur 0,6 μ de large. Ces éléments sont tantôt isolés et ont alors la forme d'un fuseau, à extrémités arrondies et légèrement amincies, tantôt réunis par deux ou plus, mais alors en petit nombre; les chaînettes de quatre ou cinq articles sont rares. La longueur de 4 μ semble maximum; le bâtonnet qui l'a atteint se scinde bientôt en deux autres mesurant à peu près 2 μ chacun, qui s'accroissent ensuite. L'extrémité par laquelle de semblables couples s'accolent est nettement carrée et plus large que l'extrémité libre arrondie. Les bâtonnets sont droits ou légèrement courbés; ils ont un aspect granuleux et, à de forts grossissements, laissent voir un ou plusieurs noyaux sphériques, réfringents. Dans le voile, ils sont immobiles; libres dans les liquides, ils ont un mouvement lent. La forme change dans les vieilles cultures; ils y deviennent plus minces, plus courbés, semblent flétris et parfois constitués par une série de renflements ovoïdes irréguliers, qui ont souvent été pris pour des chaînettes de coccus.

Le voile jaunit fortement par l'iode. Il se colore, dans certaines parties seulement et d'une façon diffuse, en bleu violet par le chloroiodure de zinc et en bleu noir par l'acide sulfurique et l'iode, ce qui indiquerait qu'il est constitué par une substance cellulosique. Certains bâtonnets peuvent aussi se teindre en bleu sans qu'aucun caractère ne les fasse distinguer de ceux qui ne se colorent pas. La gelée qui agglutine les bâtonnets est compacte et résistante; elle ne diffluе jamais dans aucun liquide. Les articles y sont disposés tout à fait irrégulièrement et ne présentent jamais, même dans les parties très jeunes, de direction déterminée.

Une parcelle d'un de ces voiles, ensemencée dans un liquide alcoolique, ou mieux dans une solution composée de 2 parties d'alcool à 95°, 2 parties d'acide acétique cristallisable, 0gr,02 de tartrate d'ammoniaque et 0gr,02 de phosphate de soude pour 100 d'eau, donne en très peu de temps un développement appréciable. On voit à la surface, en trois ou quatre jours, à 15°, une mince pellicule transparente, molle,

(1) Macé, *Traité pratique de bactériologie*, 1re édit., 1889, p. 529.

très peu adhérente aux parois du vase et tombant facilement au fond par l'agitation. Quelque temps après, il apparaît dans ce voile des points blancs, qui sont de véritables centres de croissance où la mère s'épaissit. Ils grandissent et donnent des taches régulières ou irrégulières, circulaires ou allongées, reliées entre elles par des parties moins épaisses et plus transparentes. Par suite du progrès de la croissance, le voile s'épaissit d'une façon régulière et prend les caractères précédemment exposés.

Dans le bouillon, la végétation est très semblable. Elle s'y fait bien et donne une peau épaisse, moins gluante et plus ferme que celle des liquides alcooliques.

Cette Bactérie croît sur gélatine sans y produire de liquéfaction. La culture est assez longue à se faire et demande, pour avancer, une température de 15° à 20°. Il se forme alors à la surface de la gelée, le long de la strie par exemple, une culture large et assez épaisse, d'un aspect tout à fait particulier. C'est un revêtement membraneux, blanchâtre, presque transparent, à surface tourmentée, parcourue par des ondulations régulières. Cette colonie est assez dure ; elle crie un peu sous le scalpel, comme du cartilage. La gelée nutritive ne paraît subir aucun changement ; la culture ne dégage aucune odeur.

Sur gélose, les caractères sont un peu différents. La culture est un peu jaunâtre, moins résistante, plus friable, un peu visqueuse ; la surface en est unie et ne présente que quelques grossières irrégularités.

Les bâtonnets de ces cultures sur milieux solides sont identiques à ceux observés dans les liquides ; transportés dans ces liquides, ils y reproduisent les voiles caractéristiques.

L'action que cette espèce exerce sur l'alcool est une action oxydante ; elle détermine sa transformation en acide acétique. C'est le type des *fermentations par oxydation*. L'effet produit peut ne pas s'arrêter à ce stade intermédiaire ; l'acide acétique, lorsque l'alcool vient à manquer, peut être brûlé à son tour ; les résidus sont alors très simples, de l'acide carbonique et de l'eau.

Le ferment acétique est très répandu dans la nature. On l'observe très facilement en exposant à l'air des liquides alcooliques faibles, pauvres en matières organiques. Duclaux fait jouer, dans la dissémination du ferment, un grand rôle à une mouche commune partout, *Musca cellaris*, qu'attire très vite l'odeur du vinaigre. Elle emporterait après elle des germes des milieux qu'elle visite et pourrait ainsi les répandre au loin.

BACILLUS PASTEURIANUS Hansen.

Hansen (1) décrit sous ce nom une Bactérie identique, comme végétation et action physiologique, au *Bacillus aceti*, mais dont le contenu cellulaire se teint en bleu par l'iode, réaction qui démontre la présence de matière amylacée dans son intérieur. Ce caractère est bien peu important pour établir sur lui une coupe spécifique : je l'ai du reste constaté sur des mères de vinaigre en parfait état et en bon fonctionnement.

(1) Hansen, Contributions à la connaissance des organismes qui peuvent se trouver dans la bière et dans le moût de bière et y vivre (*Meddedelser fra Carlsberg-Laboratoriet*, 2e p., Copenhague, 1879).

On le rencontre surtout dans les bières légères, pauvres en alcool et riches en matières extractives : jamais, par contre, dans les bières fortement alcoolisées et dans le vin, où c'est le précédent qui se développe.

Cultivée dans la bière, à 34° (1), elle y forme rapidement un voile sec, présentant des rides et des plis, ne s'élevant que très peu contre les parois au-dessus de la surface du liquide. Les éléments du voile sont assez grands et épais, souvent disposés en chaînes. La gelée qui les retient est colorée en bleu par l'iode.

Sur gélatine au moût ou à la bière, l'espèce y donne, en trois ou quatre jours, des colonies à surface sèche qui, après trois semaines, ont des plis assez nombreux. La gelée n'est pas liquéfiée.

Dans la bière double, la température maxima de croissance est à 42°, la température minima à 5-6 degrés.

BACILLUS KUTZINGIANUS Hansen.

C'est un autre ferment acétique également isolé des bières par Hansen (2).

Le voile qu'il forme dans la bière, à 34°, est sec et ridé, mais grimpe le long des parois, fort au-dessus du niveau du liquide. Les éléments sont des bâtonnets courts et larges, le plus souvent indépendants, d'autres fois accouplés deux à deux ou plus rarement en chaînettes. La gelée ambiante est colorée en bleu par l'iode.

Sur gélatine, les colonies sont glaireuses, à surface unie, sans plis.

BACILLUS LACTICUS Pasteur.

Pasteur (3) a montré que la transformation du sucre en acide lactique, la *fermentation lactique* qu'on peut appeler normale, était due au développement, dans le liquide qui fermente, d'une Bactérie spéciale qu'il a isolée en cultures pures et dont il a précisé les caractères. Cette espèce est très commune dans le lait, qu'elle vient contaminer dès qu'il est exposé à l'air et où elle se développe très bien aux dépens du lactose. Elle acidifie peu à peu le liquide, très légèrement alcalin ou à réaction amphotère au moment de sa sortie du pis, et peut, si les circonstances de température sont bonnes, produire une quantité d'acide lactique telle, que le lait se coagule dès qu'on le chauffe, ou même spontanément à la température ordinaire ; on dit alors qu'il est *tourné*. Le phénomène est dû à la précipitation de la caséine qui, sous l'influence de l'acide, prend peu à peu l'état insoluble.

Hueppe (4) a observé le développement de ce Bacille sur les milieux solides.

Les éléments sont de courts bâtonnets immobiles, mesurant en

(1) Hansen, Recherches sur les Bactéries acétifiantes (*Ann. de micr.*, VI, 1894, p. 385 et 441).

(2) Hansen, *loc. cit.*

(3) Pasteur, Mémoire sur la fermentation appelée lactique (*Ann. de chim. et de phys.*, 3e série, LII, p. 404).

(4) Hueppe, Untersuchungen über die Zersetzungen der Milch durch Microorganismen (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, 1884, p. 309).

moyenne 1,7 μ, mais dont la longueur peut varier entre 1 μ et 2,8 μ; la largeur est plus fixe, de 0,6 μ environ. Ils sont isolés ou réunis par deux ou en chaînes d'un petit nombre d'articles la plupart du temps. Ils donnent facilement des spores dans les solutions sucrées et aussi, mais difficilement, dans le lait; ce sont de petites sphères régulières, brillantes, situées à une extrémité du bâtonnet. Ce Bacille se colore bien aux couleurs d'aniline et *reste coloré* par la méthode de Gram. Le développement ne se fait qu'en présence d'oxygène.

En culture sur *plaques de gélatine*, cette espèce donne, en quarante-huit heures, de petites colonies d'un blanc grisâtre, porcelanées, qui s'étalent à la surface en prenant des bords sinueux, transparents, tandis que le centre reste opaque et devient un peu jaunâtre. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Sur *gélatine*, en piqûre, il se forme dans le canal de petites sphères et à la surface une culture grisâtre, luisante. En strie, ce sont des petites colonies circulaires, isolées au début, qui confluent et produisent une bande blanchâtre, sinueuse.

Les colonies sur gélatine, en plaques et en piqûre, rappellent souvent comme aspect les colonies du *Bacille typhique*. Il peut être bon de se souvenir de ce détail.

Sur *gélose*, il se produit une bande laiteuse, luisante. Il apparaît quelquefois des bulles de gaz dans la gelée.

Sur *pomme de terre*, la culture est crémeuse, d'un blanc jaunâtre, assez épaisse.

Le *bouillon* se trouble rapidement; il se forme à la surface un voile blanchâtre, friable.

Le *lait*, mis en culture à 30°, se coagule de quinze à vingt-quatre heures, et se prend en une masse gélatineuse, homogène, où se forment quelques fissures. Il apparaît de rares bulles d'acide carbonique dans la masse. Le coagulum se rétracte; un sérum clair vient remplir les fentes et se sépare peu à peu du caillot blanc de caséine. A la surface s'est rassemblée la matière grasse intacte. La caséine n'est pas modifiée; cette Bactérie ne possède aucune action peptonisante.

Une *solution sucrée*, ensemencée et maintenue vers 30°, se trouble en deux heures; il se forme en quelques jours, au fond du vase, un dépôt grisâtre, un peu visqueux. Le liquide est devenu acide. Lorsque la quantité d'acide produit atteint un certain chiffre, la fermentation se ralentit ou s'arrête, le milieu devenant peu propre à la végétation de la Bactérie. En ajoutant au préalable au liquide du carbonate de chaux, qui neutralise l'acide au fur et à mesure de son apparition, on peut prolonger l'action. Il se forme alors du lactate de chaux et il se dégage de l'acide carbonique.

D'après les recherches de Wurtz et Leudet (1), le *Bacille lactique* est nettement pathogène pour le lapin et le cobaye. L'animal, inoculé sous la peau, dans les veines ou le péritoine, est rapidement abattu, le poil hérissé, est pris de diarrhée et maigrit très rapidement. La mort survient en vingt-quatre heures ou après quelques jours, suivant les doses employées. Les cultures filtrées sur bougie Chamberland déterminent

(1) Wurtz et Leudet, Recherches sur l'action pathogène du Bacille lactique (*Arch. de méd. expér.*, III, 1891, p. 485). — *Id.*, Identité du Bacille lactique et du *Bacillus lactis aerogenes* (*Soc. de Biol.*, 1893, p. 531).

des symptômes identiques ; l'action serait donc due à une toxine sécrétée par le Bacille.

En se basant sur les résultats de ces expériences et certaines similitudes d'aspect des cultures, les auteurs précités veulent identifier le *Bacille lactique* au *Bacillus lactis aerogenes*. Denys et Martin (1) vont même plus loin et identifient avec le ferment lactique le *Bacillus lactis aerogenes*, le *Pneumobacille de Friedlaender* et, moins catégoriquement toutefois, le *Colibacille* et le *Bacille typhique*. Ce sont là des opinions auxquelles on ne peut pas encore se rallier entièrement.

La propriété de coaguler le lait n'est pas spéciale au *Bacillus lacticus* ; beaucoup d'autres espèces la possèdent au même degré. Certaines, le *Micrococcus de la mammite contagieuse de la vache*, le *Bacillus coli communis*, le *Bacillus lactis aerogenes*, y arrivent par un processus identique : formation d'acide lactique aux dépens du sucre de lait. L'acide lactique formé peut être de l'acide lactique droit, de l'acide lactique gauche ou de l'acide lactique inactif (2). La durée de la fermentation et la quantité d'acide produit dépendent de la nature du ferment, de son âge, de la composition du milieu où on le fait vivre (3). Ce sont là les véritables *ferments lactiques*. D'autres provoquent le même phénomène par un procédé bien différent ; elles sécrètent, comme l'a démontré Duclaux (4), un ferment soluble en tout analogue à la présure de l'estomac du jeune mammifère qui coagule la caséine mais ne la modifie pas. Si elle se dissout ensuite, c'est grâce à la présence d'une diastase bien différente. Vignal (5) a reconnu cette propriété à beaucoup de Bactéries qu'il a rencontrées dans la bouche ou l'intestin.

BACILLUS BUTYRICUS Pasteur.

(*Vibrion butyrique.*)

C'est encore à des Bactéries qu'est due la *fermentation butyrique*, que subissent si souvent beaucoup de substances hydrocarbonées. Plusieurs espèces, presque confondues encore jusqu'ici, peuvent produire cette réaction ; la désignation spécifique donnée doit plutôt être considérée comme un type que des recherches ultérieures feront reconnaître comme complexe, où déjà, suivant les cas, on remarque des différences importantes dans la sporulation, dans les rapports avec l'oxygène, dans les produits de l'action sur les milieux de culture.

Le *Vibrion butyrique* de Pasteur (6) est certainement une de ces formes les plus importantes et les plus répandues. C'est l'espèce anaérobie type, qui occasionne la fermentation butyrique des solutions

(1) Denys et Martin, Sur les rapports du Pneumobacille de Friedlaender, du ferment lactique et de quelques autres organismes avec le *Bacillus lactis aerogenes* et le *Bacillus typhosus* (*La Cellule*, IX, 1893).

(2) Péré, Sur la formation des acides lactiques isomériques par l'action des microbes sur les substances hydrocarbonées (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 737).

(3) Kayser, Études sur la fermentation lactique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 737).

(4) Duclaux, Chimie biologique, p. 131.

(5) Vignal, Recherches sur les microorganismes de la bouche et des matières fécales (*Arch. de phys.*, 1887).

(6) Pasteur, Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LII, 1861, p. 861), et Études sur la bière, 1876, p. 282.

de lactate de chaux, du lait qui a subi au préalable l'action du *Bacillus lacticus*.

Il est difficile d'en distinguer jusqu'ici le *Bacillus amylobacter* de Trécul (1) et Van Tieghem (2), cet agent de la dissolution de la cellulose et de sa fermentation butyrique, si commun dans toutes les macérations végétales (3). Il n'apparaît, comme le *Vibrion butyrique*, que lorsque d'autres espèces aérobies, développées en premier lieu, ont consommé la totalité, ou au moins la majeure partie de l'oxygène du liquide. Le *Clostridium butyricum* de Prazmowski (4) paraît devoir être aussi identifié avec le *Bacillus amylobacter*.

Les données que l'on possède actuellement ne permettent pas encore de séparer ces êtres si voisins comme aspect, comme conditions de développement. Leur caractère d'anaérobies exclusifs en rend les cultures et surtout l'isolation difficiles; c'est à cela qu'il faut surtout rapporter l'incertitude qui règne à leur égard et que dissiperont bien certainement les perfectionnements de la technique.

Les éléments sont des bâtonnets cylindriques, à extrémités arrondies, mesurant de 3 μ à 5 μ de long, sur 0,6 μ à 0,8 μ de large, droits ou légèrement courbés. Souvent isolés ou disposés par deux ou trois (fig. 303, *1*, *2*, *4*), ils forment, dans les milieux très liquides, des chaînes assez longues et quelquefois de longs filaments indistinctement articulés. Ces Bacilles, isolés ou unis en chaînes, sont animés d'un mouvement d'oscillation rapide ; les filaments sont lentement mobiles. Le contact de traces d'oxygène diminue aussitôt la motilité et la fait disparaître en quelques secondes.



Fig 303. — *Bacillus butyricus*. 1200/1.

La formation des spores s'observe facilement dans les cultures. L'article qui va sporuler se renfle. L'élargissement peut se faire à la partie médiane ; il intéresse alors le plus souvent tout le bâtonnet qui prend la forme de fuseau ou de tonnelet dont la plus grande largeur atteint parfois 2 μ : c'est la forme *Clostridium* de Trécul (fig. 303, *6*). Le renflement peut ne porter que sur une extrémité ; le bâtonnet prend la forme de massue, de têtard, de battant de cloche, l'*Urocephalum* de Trécul (fig. 303, *3*, *5*) ; il a dans ce cas souvent grandi avant de se renfler et atteint de 6 μ à 8 μ. A l'endroit élargi, la spore apparaît comme une tache claire, ovale, qui grandit un peu et prend des contours sombres. Bien formée, c'est un corps ovoïde, parfois allongé, à contours sombres, à membrane épaisse, ayant de 1 μ à 1,5 μ de large, sur une longueur qui est souvent de 2 μ (fig. 303, *7*).

Au moment de la formation des spores, le protoplasma des bâtonnets subit des modifications chimiques importantes ; il apparaît dans son intérieur de la matière amylacée qui se teint en bleu par l'iode et dont

(1) Trécul, *C. R. de l'Acad. des sc.*, LXI, 1865, p. 156 et 436 ; LXV, 1876, p. 513.

(2) Van Tieghem, Sur le *Bacillus amylobacter* (*Bull. de la Soc. bot.*, XXIV, 1877, p. 128), et *C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXVIII, 1879, p. 205 ; LXXXIX, p. 25 et 1102.

(3) Omeliansky, Sur la fermentation de la cellulose (*C. R. des séances de l'Acad. des sc.*, 4 novembre 1895).

(4) Prazmowski, Untersuchungen über Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterien-Arten. Leipzig, 1880.

on peut suivre pas à pas l'apparition et la disparition à l'aide de ce réactif. Le bâtonnet qui va se renfler pour produire une spore se colore en bleu par taches irrégulières d'abord, puis dans son entier. A l'endroit où la dilatation se forme, après traitement par le réactif, on s'aperçoit qu'une tache reste incolore ; c'est là que se forme la spore. A mesure que la spore se développe, l'amidon disparaît irrégulièrement du bâtonnet, employé sans doute à sa constitution. Quand la spore est mûre, le bâtonnet ne se colore plus, ou très peu seulement par l'iode.

La germination de la spore a été bien suivie et décrite par Prazmowski (1). A l'un des pôles de la spore ovoïde, la membrane se résorbe ; il se forme un orifice par lequel sort un petit prolongement cylindrique qui s'allonge et donne un jeune bâtonnet, se segmentant presque aussitôt (fig. 303, *8*, *9*). La membrane de la spore peut rester longtemps pendue à la courte chaîne d'éléments produits, sans se flétrir. Le grand axe des jeunes bâtonnets coïncide avec celui de la spore et conséquemment avec celui de la cellule mère.

Ces spores jouissent d'une résistance aux agents de destruction beaucoup plus grande que celle des bâtonnets. Elles peuvent, entre autres, subir impunément le contact de l'air, qui tue rapidement les cellules végétatives. Peut-être même, d'après Duclaux, ce contact est-il nécessaire à leur germination future. Mais elles ne commencent à se développer que dans un milieu complètement privé d'oxygène ; la moindre trace d'air empêche la germination. La résistance à la chaleur n'est pas très considérable ; une ébullition de cinq minutes tue toutes les spores d'un milieu.

Les caractères des cultures sont très peu connus. Pasteur recommande les bouillons et les solutions de lactate de chaux. Dans le lait, d'après Hüppe (2), il se produirait une coagulation de la caséine qui ne serait dissoute que très lentement et en faibles proportions. Liborius (3) aurait pu cultiver cette espèce dans des tubes de gélose, en mélangeant des spores à la gelée encore fondue. Le développement se fait dans les couches inférieures où apparaît un trouble nuageux ; il se dégage des gaz qui fendillent la masse ; les cultures sentent l'acide butyrique. Le développement est d'abord semblable dans la gélatine, mais la gelée se liquéfie autour des colonies.

Certains sucres, la glycérine, les lactates alcalins, subissent, sous l'influence du *Bacillus butyricus*, la fermentation butyrique typique. Le produit principal est l'acide butyrique ; il se dégage de l'hydrogène et de l'acide carbonique en proportions très variables. Le premier de ces gaz peut même manquer totalement.

La cellulose est attaquée (4) ; elle est d'abord dissoute à l'aide d'une diastase sécrétée par la Bactérie, puis le produit soluble, granulose, dextrine ou glucose, subit la fermentation butyrique. Mais les différentes variétés de cellulose ne sont pas modifiées de la même façon ;

(1) Prazmowski, Untersuchungen über Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterien-Arten. Leipzig, 1880.

(2) Hüppe, Untersuchungen über die Zersetzungen der Milch durch Microorganismen (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, 1884, p. 309).

(3) Liborius, Beiträge zur Kenntniss des Sauerstoffbedürfnisses der Bacterien (*Zeitschr. für Hygiene*, I, p. 115).

(4) Omeliansky, Sur la fermentation de la cellulose (*C. R. des séances de l'Acad. des sc.*, 4 novembre 1895).

plusieurs résistent complètement. La cellulose cuticularisée, transformée en liège, lignifiée, incrustée de substances minérales, reste inattaquée. Celle des plantes aquatiques résiste également. La Bactérie dissout au contraire facilement la cellulose des tissus mous, parenchymateux, celle des tissus embryonnaires. Les membranes gélifiées peuvent subir son action; elle fait fermenter la gelée du *Leuconostoc mesenteroides*. La pratique du *rouissage*, qui isole les fibres du lin et du chanvre pour en faire des textiles, a été longtemps considérée comme résultant de l'action de l'*Amylobacter*. Les recherches de Winogradsky (1) tendraient à démontrer que cette action est due à un ferment spécial, Bacille anaérobie, de 10 à 15 μ de long sur 0,8 μ de large, qui n'attaque ni la cellulose ni la gomme; ce qui se produirait serait une véritable *fermentation pectique*. C'est au *Bacillus butyricus* que l'on doit probablement rapporter, en grande partie, la digestion de la cellulose; on le rencontre, en effet, en grande abondance dans la panse des ruminants et dans le jabot des oiseaux granivores où il agit sur la cellulose des enveloppes des grains.

L'amidon en grains n'est pas modifié. En faisant macérer dans l'eau des tranches de pomme de terre, la cellulose des membranes est dissoute par des espèces de ce groupe, l'amidon que contiennent les cellules reste inaltéré. C'est la base d'un procédé pratique d'obtention de la fécule de pomme de terre.

Des matières albuminoïdes peuvent aussi subir la fermentation butyrique; les bouillons, les gelées peptonisées développent l'odeur butyrique dans les cultures.

Perdrix (2) a décrit, sous le nom de *Bacille amylozyme*, un ferment butyrique anaérobie qu'il a isolé des eaux de la Seine et de la Vanne à Paris.

Pour l'obtenir, il ensemence l'eau sur de l'eau dans laquelle est placé un morceau de pomme de terre, dans le vide, et met à l'étuve. Le lendemain, une petite quantité du liquide est introduite dans une petite pipette effilée et maintenue pendant dix minutes à 78°-80°. Ce liquide est réensemencé comme précédemment. Une trace de cette culture est ensemencée en strie sur pomme de terre seule, dans le vide, en tube de Roux (p. 241). Au bout de quelques jours, à l'étuve, il s'est développé des colonies séparées, qu'il est possible d'isoler. Celles du *Bacille amylozyme* sont d'abord un peu blanches; elles s'élargissent en s'agrandissant circulairement et forment des petits mamelons autour desquels la pomme de terre se creuse un peu, puis se liquéfie progressivement. En ensemençant des traces de ces colonies dans de la gélatine privée d'air par un courant d'hydrogène et aspirée, après l'ensemencement, dans un tube de verre de très petit diamètre, on aperçoit au bout de cinq à six jours, en certains points, de petites taches blanches dégageant du gaz, que l'on peut isoler facilement en coupant le tube à leur niveau; ces colonies ne liquéfient pas la gélatine.

Le *Bacille amylozyme* a ses éléments mobiles, de 2 à 3 μ de long sur

(1) Winogradsky, Sur le rouissage du lin et son agent microbien (*C. R. des séances de l'Acad. des sc.*, 18 novembre 1895).

(2) Perdrix, Sur les fermentations produites par un microbe anaérobie de l'eau (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V, 1891, p. 287).

0,5 μ de large, à extrémités arrondies; ils sont réunis par deux ou plus, en chaînes. L'air arrête de suite leurs mouvements. Ils se colorent facilement aux couleurs d'aniline. Ils produisent rapidement des spores.

Il se cultive bien dans les milieux ordinaires, mais sans oxygène. La température la plus favorable est de 35° environ. A 20°-25°, il pousse encore bien, mais la fermentation qu'il produit est plus lente. A 16°, il n'y a presque pas de développement. A 42°-43°, il y a encore fermentation ; rien ne se produit plus à 44 degrés.

Ce Bacille fait fermenter les sucres, agit énergiquement sur la matière amylacée, mais n'a pas d'action sur la cellulose et sur le lactate de chaux.

Tous les sucres se transforment en acide butyrique avec dégagement d'hydrogène et d'acide carbonique à volumes égaux. Au début, il y a un peu d'acide acétique produit. La culture s'arrête quand l'acidité correspond à $0^{gr},10$ d'acide sulfurique pour 100 centimètres cubes. On peut augmenter la proportion d'acide formé en ajoutant aux cultures du carbonate de chaux.

Le Bacille pousse très bien sur tous les milieux renfermant de l'amidon cuit; moins bien sur l'amidon cru. L'amidon est d'abord transformé en une matière sucrée, voisine du glucose, en différant par un pouvoir rotatoire plus faible. Ce sucre subit ensuite la fermentation, donne un peu d'acide acétique et beaucoup d'acide butyrique, comme précédemment, et, en plus, une petite quantité d'alcools éthylique et amylique. Le volume d'alcools formés est de $2^{cc},3$ à $2^{cc},5$ pour 100 grammes de pomme de terre; on y trouve de 25 à 28 p. 100 d'alcool amylique pour 72 à 75 p. 100 d'alcool éthylique. C'est peut-être dans cette fermentation, qui s'établit secondairement dans les opérations industrielles, que l'on doit chercher l'origine de l'alcool amylique dans les alcools obtenus avec la pomme de terre.

Botkin (1) a isolé d'eaux diverses, de la terre, un ferment butyrique anaérobie voisin du précédent. Sur gélatine sucrée, il forme de petites colonies rondes ou ovalaires, à bords faiblement sinueux, ressemblant à de petits amas de fils pelotonnés ; la gélose est liquéfiée progressivement. Dans le lait, il coagule rapidement la caséine, qui exsude une sérosité claire ; des gaz se dégagent ; la caséine est attaquée et presque entièrement dissoute. Les Bacilles des cultures, surtout de celles qui renferment de l'amidon, présentent des granulations qui se colorent en bleu par l'iode. Dans les cultures, on rencontre surtout de l'acide butyrique, de l'acide lactique et des traces d'acides succinique, formique et acétique.

Les Bacilles décrits par Kedrowski (2) se rapprochent beaucoup de ce dernier.

Klecki (3) nomme *Bacillus saccharobutyricus* un ferment butyrique anaérobie, ne liquéfiant pas la gélatine, comme le *Bacille amylozyme*,

(1) Botkin, Ueber einen Bacillus butyricus (*Zeitschr. für Hygiene*, XI, 1892, p. 421).

(2) Kedrowski, Ueber zwei Buttersaüre prod. Bakterien (*Zeitschr. für Hygiene*, XVI, 1894, p. 445).

(3) Klecki, Ein neuer Buttersaüregärungs Erreger (*Bacillus saccharobutyricus*) (*Centralbl. für Bakt.*, 2[te] Abth., II, p. 249 et 286).

dont les éléments ont de 5 μ à 7 μ de long sur 0,7 μ de large. Aux dépens du lactose, il donne de l'acide butyrique, de l'acide formique et probablement un peu d'acide valérianique.

Les Bactéries de la fermentation butyrique sont très répandues dans la nature; elles se trouvent en abondance dans l'air, dans la terre et dans l'eau, toujours prêtes à manifester leur action dès que des conditions convenables sont à leur portée, aliments de certaine composition et absence d'oxygène. Van Tieghem (1) a pu retrouver des bâtonnets à spores très reconnaissables dans des coupes de tissus silicifiés de plantes de la période carbonifère. Les Bactéries ont assurément joué un grand rôle dans la formation des couches de houille.

Des Bactéries anaérobies ne semblent pas seules provoquer une fermentation butyrique; plusieurs espèces aérobies le font également, quoique peut-être moins bien. La formule de la réaction doit être différente ici, où l'oxygène doit certainement intervenir. De plus, la présence d'acide butyrique parmi des produits de la vie de ces derniers n'est pas constante; on peut ne l'observer que pendant quelque temps, ou dans des cultures et pas dans d'autres, sans qu'on en puisse deviner la raison ou qu'on puisse incriminer la composition du milieu. C'est ainsi que les premières cultures du *Bacillus violaceus* dégagent souvent une odeur butyrique très forte, qui peut disparaître ou n'être plus que très faible dans les suivantes. Plusieurs des *Tyrothrix* de Duclaux agissent de même. Bien des espèces bactériennes peuvent ainsi produire de petites quantités d'acide butyrique aux dépens des hydrocarbonés, surtout des sucres; on ne doit, toutefois, considérer comme *ferments butyriques* vrais que celles qui produisent de notables proportions de cet acide, ce qui indique une réelle spécialisation fonctionnelle. Chez les autres, l'acide butyrique ne représente qu'un des stades de la dissociation moléculaire de la substance.

Hüppe (2) a isolé, de lait imparfaitement stérilisé et où ne s'était pas développé de *Bacillus lacticus*, une Bactérie le coagulant sans qu'il manifestât de réaction acide, mais au contraire une réaction faiblement alcaline, qu'il considère comme un Bacille de fermentation butyrique. Elle donne en effet de l'acide butyrique aux dépens des lactates ou des solutions de certains sucres, le maltose par exemple. Cultivée dans le lait, cette espèce coagule lentement la caséine, le coagulum est ensuite rongé et dissous; il ne disparaît qu'après un mois et plus; le liquide est peu alcalin, dégage de l'ammoniaque et a une saveur amère. La gélatine est rapidement liquéfiée; le milieu se colore en jaune et présente, à la surface, une pellicule mince, plissée, blanchâtre. La caséine du lait est rapidement décomposée avec formation d'ammoniaque, de peptones, de leucine et de tyrosine. La végétation se fait parfaitement en présence d'oxygène; aussi n'y a-t-il pas à penser à identifier cette espèce avec le *Bacillus butyricus* de Pasteur, anaérobie vrai. Les caractères donnés ne suffisent pas du reste pour la classer avec certitude.

Beaucoup d'autres espèces de Bactéries produisent de l'acide buty-

(1) Van Tieghem, Sur la fermentation butyrique à l'époque de la houille (*C. R. de l'Acad. des sc.*, LXXXIX, 1879, p. 1102).

(2) Hueppe, *loc. cit.*, p. 353.

rique aux dépens des hydrocarbonés que renferment les milieux où elles vivent ; à cause de la petite quantité d'acide formé, souvent des traces, il n'est pas rationnel de les considérer comme des ferments butyriques, la prédominance du produit caractéristique devant être nettement marquée dans toute fermentation méritant réellement ce nom. Ici, comme dans toutes les fermentations, il faut distinguer les produits principaux et les produits secondaires.

Il n'est pas impossible que des organismes autres que des Bactéries puissent être des agents de fermentation butyrique.

Curci (1) décrit un Saccharomycète produisant des quantités notables d'acide butyrique aux dépens des sucres, 7gr,317 pour 23 grammes de saccharose ; d'après lui, toutefois, cette Levure placée dans certaines conditions se transformerait en Bacille qui pourrait à son tour revenir à la forme de Levure. Ce sont là des résultats qui ne s'accordent pas avec les idées actuelles.

BACILLUS CAUCASICUS Kern.

Les habitants du Haut-Caucase désignent, sous le nom de *képhyr*, *kéfir*, ou *kiaphyr*, une boisson acidule, très légèrement alcoolique, qu'ils préparent en soumettant du lait à l'action d'un ferment spécial connu sous le nom de *grains de képhyr*.

D'après Kern (2), ces *grains de képhyr* sont des zooglées d'une espèce de Bactérie en bâtonnets, pour laquelle il avait proposé, nous en saurons la raison tout à l'heure, le nom de *Dispora caucasica*, qui doit devenir *Bacillus caucasicus*.

Ce sont de petites masses d'un blanc jaunâtre, compactes, élastiques, à l'état frais. Elles se laissent facilement couper au rasoir, en montrant une consistance qui rappelle celle d'un cartilage tendre. Sèches, elles deviennent dures, plus friables, d'un jaune sale, un peu transparentes, ressemblant à de petites boulettes de mie de pain pétrie. Leur volume est variable; on en trouve de la grosseur d'une tête d'épingle et de celle d'une forte noix. La surface est irrégulière, bosselée. Plongées dans un liquide, elles gonflent un peu et deviennent plus molles et plus blanches.

Dans la masse des Bactéries retenues par de la matière mucilagineuse, on trouve des cellules de Levures, isolées, réunies par deux ou plus en courtes chaînes. Ces cellules sont de deux sortes : les unes, elliptiques, mesurent de 2,3 μ à 9,5 μ de plus grande longueur ; les autres, de 3,2 μ à 6,4 μ de diamètre.

La majeure partie des *grains de képhyr* est formée par les Bactéries. Ce sont elles qui produisent la masse muqueuse, élastique, qui tient le tout réuni. Ces Bactéries sont de courts bâtonnets cylindriques, mesurant de 3,2 μ à 8 μ de long sur 0,8 μ de large ; elles sont empâtées dans une masse de gelée sur laquelle le chloro-iodure de zinc n'a pas d'action et qui doit probablement se rapprocher du mucilage. Dans la zooglée, les bâtonnets sont immobiles ; ceux qui s'isolent dans

(1) V. Curci, Nuevo fermento butyrico (*Anales del Museo nacional de Montevideo*, VII, 1896).

(2) Kern, Ueber ein Milchferment aus dem Kaukasus (*Bull. de la Soc. imp. des naturalistes de Moscou*, 1881).

un liquide ont les mouvements très vifs; Kern leur décrit même un cil vibratile, colorable par l'extrait de bois de Campêche. Il peut se produire de longs filaments de 10 μ et plus de longueur. Des spores sphériques de 1 μ de diamètre peuvent se produire dans les filaments ou les articles isolés. Dans ces derniers, il s'en formerait une à chaque extrémité; ces bâtonnets ont alors l'aspect d'haltères. Il est possible qu'il s'opère un cloisonnement difficile à voir, ou que l'observateur cité ait pris pour des spores la rétraction du protoplasme aux deux pôles, si fréquente chez bien des espèces. C'est en tout cas de ce caractère que provient le nom de *Dispora caucasica*. En admettant la réalité de ces assertions, rien n'autoriserait quand même la création d'un genre distinct pour ces Bacilles.

Cette Bactérie se cultive très bien dans les solutions sucrées et, d'après Krannhals (1), dans le bouillon et la gélatine.

Les données de Kern ont été contredites par d'autres observateurs. Les *grains de képhyr* paraissent contenir, outre les Levures, plusieurs espèces de Bactéries; j'y ai rencontré surtout les *Bacillus lacticus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus butyricus*. De nouvelles recherches sont cependant nécessaires pour arriver à une solution suffisante. Aucune de ces espèces, en effet, ne semble capable de produire un mucilage aussi résistant et des zooglées aussi curieuses. Freudenreich (2), outre le *Bacillus caucasicus*, décrit deux *Streptocoques* qui seraient de vrais ferments lactiques.

Les modifications subies par le lait sous l'influence de ce ferment sont considérables. Elles sont dues aux actions simultanées ou successives des organismes contenus dans les grains.

La préparation du *képhyr* se fait de la manière suivante : Une petite quantité de ces grains est mélangée, dans des outres, à du lait frais de vache, de chèvre ou de brebis ; on remue soigneusement et on laisse dans un endroit frais. La préparation du liquide se fait d'autant plus vite que la proportion de grains est plus forte. Habituellement, le *képhyr* est propre à l'usage après douze à vingt-quatre heures ; on le recueille dans les vases à boire après avoir secoué l'outre, ou on l'enferme dans des bouteilles bien bouchées et ficelées. Les grains peuvent servir à faire fermenter du nouveau lait. On peut les dessécher et les conserver très longtemps, un an et plus, sans leur voir perdre leurs propriétés ; il semble cependant, dans ce cas, que les cellules de Levures diminuent beaucoup.

Le *képhyr* frais, bien préparé, est un liquide transparent, un peu filant, sans flocons de caséine en suspension, de saveur acidule, agréable. Lorsque la fermentation se prolonge, il devient mousseux, fortement acide.

Les phénomènes se passent de la façon suivante : Le lait devient rapidement acide par suite du développement abondant du *Bacillus lacticus*. La caséine cependant ne se précipite pas; elle est dissoute au fur et à mesure de sa modification, par la caséase que produisent les autres Bactéries contenues dans les grains de képhyr, le *Bacillus*

(1) Krannhals, Ueber das kumysähnliche Getränk Kephir (*Deutsches Arch. für klin. Med.*, 1884).

(2) Freudenreich, Bakteriologische Untersuchungen über den Kefir (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., III, 1897).

caucasicus entre autres, s'il existe réellement. Ces dernières sécrètent en outre de l'invertine, qui intervertit le sucre de lait et le rend apte à subir l'action de la Levure, qui est probablement le *Saccharomyces cerevisiæ*.

Tous ces changements contribuent à donner au liquide ses propriétés toutes spéciales, qui en font à la fois une boisson agréable et un aliment réparateur, voire même parfois un excellent médicament. L'acide lactique lui communique sa saveur acidule. La matière albuminoïde du lait, la caséine solubilisée par les diastases des Bactéries, est devenue éminemment propre à l'assimilation. La Levure elle-même, en faisant fermenter le sucre, a produit de l'acide carbonique qui fait mousser le képhyr et ajoute à la saveur acidule de l'acide lactique ; elle donne parfois de petites quantités d'alcool, dont l'action est souvent à rechercher. Lorsque la fermentation se maintient longtemps, le *Bacillus butyricus* peut se développer et communiquer alors au liquide une odeur de fromage, parfois un peu putride.

BACILLUS BUTYLICUS Fitz.

Fitz (1) l'a obtenu d'une façon constante en ensemençant un bouillon glycériné avec des traces de fiente de vache.

Ce sont des bâtonnets larges et trapus, à extrémités arrondies, mesurant de 5 μ à 6 μ de long et 2 μ de large en moyenne. Ils sont immobiles dans les liquides fortement aérés, bien qu'ils n'y forment jamais de voile; au milieu du liquide, quand l'oxygène est déjà consommé, ils présentent des mouvements vifs. Les spores se produisent très facilement dans les cultures; on en rencontre déjà au bout de deux ou trois jours. Elles sont ovoïdes et ont en général la même largeur que le bâtonnet; souvent cependant celui-ci se renfle en œuf au préalable et est alors plus gros. Au moment où la spore va se former, il apparaît dans le protoplasma de la matière amylacée soluble; la cellule se teint en bleu par l'iode. Les spores ne résistent que quelques minutes à l'ébullition; elles supportent pendant six heures une température de 95° et meurent lorsqu'elles ont été exposées à 80° pendant onze heures.

C'est un agent de fermentation très énergique du sucre, de la glycérine et de la mannite. Il produit une diastase qui intervertit le sucre de canne; le sucre de lait n'est pas touché. L'amidon ne subit aucune transformation.

Fitz l'a cultivé dans les liquides formés de trois parties d'une substance ci-dessus énoncée, et une partie d'extrait de viande pour cent d'eau.

Avec le sucre, le liquide est acide ; il contient de l'alcool butylique, et un peu d'acide lactique.

Pour la mannite, on obtient les mêmes produits et un peu d'alcool éthylique.

Avec la glycérine, il se forme surtout de l'alcool butyrique et un peu d'alcool ordinaire.

(1) Fitz, *Ber. der deutsche chem. Gesellschaft*, XI, 1878, p. 48 et 1890; XIII, 1881, p. 1890 ; XV, 1882, p. 867.

Cette Bactérie vit très bien dans les solutions de lactates et de tartrates alcalins, mais ne détermine alors aucune fermentation.

On n'a aucun détail sur la culture sur milieux solides.

Duclaux (1) décrit sous le nom d'*Amylobacter butylicus* un *ferment butylique* isolé d'une macération stérilisée de fragments de pomme de terre, ensemencée avec une parcelle de terre végétale. C'est un ferment énergique de l'amidon, d'où le nom générique qu'il lui a attribué. Mis en contact avec des fragments de pomme de terre stérilisés dans de l'eau, il les vide de leur amidon sans toucher à la paroi de la cellule ; ces fragments conservent leur forme, leur tissu cellulaire est resté intact.

Les dimensions des éléments varient avec le milieu de culture : cylindriques quand ils sont jeunes, ils se renflent plus ou moins en vieillissant en un point où se forme la spore. Ce Bacille vit indifféremment en aérobie ou en anaérobie.

Comme produits de fermentation, avec l'amidon ou les sucres, l'*Amylobacter butylicus* donne de l'alcool butylique, de l'acide acétique et de l'acide butyrique, parfois, mais pas toujours, de minimes quantités d'acide lactique. En ajoutant du carbonate de chaux au milieu, la proportion d'acides augmente, celle d'alcool diminue ; au début même, la fermentation peut être presque exclusivement butyrique. Il se dégage de l'hydrogène et de l'acide carbonique, avec prédominance du premier gaz.

La glycérine est attaquée sans dégagement gazeux bien apparent. Pour 10 grammes de glycérine disparue, on trouve environ 2 grammes d'acide butyrique et 2 centimètres cubes d'alcool butylique.

Le lactate de chaux fermente avec dégagement gazeux sans donner d'alcool butyrique ; il n'y a que des acides dans le milieu, surtout de l'acide butylique.

Le Bacille se développe très bien aux dépens des matières albuminoïdes; il forme une notable quantité d'ammoniaque, un peu d'acides butyrique et acétique, pas du tout d'alcool butylique.

BACILLUS ORTHOBUTYLICUS Grimbert.

C'est un anaérobie du sol que Grimbert (2) a isolé d'une fermentation de tartrate de chaux, mise en marche au moyen de quelques gouttes d'une macération de graines de légumineuses ; la présence du Bacille y était tout à fait accidentelle, car il est sans action sur le tartrate de chaux. Un chauffage à 100° pendant une minute élimina les espèces moins résistantes ; le microbe fut isolé par des ensemencements successifs sur pomme de terre, dans le vide.

Les éléments sont des bâtonnets cylindriques, à extrémités arrondies, mesurant de 3 à 6 μ de long sur 1,5 μ de large; beaucoup d'éléments jeunes sont renflés à une extrémité, en battant de cloche. Des spores se produisent très facilement, au nombre de deux à trois par article

(1) Duclaux, Sur la nutrition intracellulaire, 3e mémoire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 811).

(2) Grimbert, Fermentation anaérobie produite par le *Bacillus orthobutylicus* (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 353).

d'après Grimbert. Les bâtonnets sont très mobiles dans les milieux privés d'oxygène ; les mouvements cessent quand la spore se forme.

Les spores résistent à 100° pendant une minute, à 80° pendant dix minutes ; à 85°, elles sont détruites en dix minutes.

Les cultures s'obtiennent facilement, à l'abri de l'air, dans le liquide minéral de Pasteur ou d'autres similaires, additionnés de 3 à 5 p. 100 d'une substance que le Bacille peut faire fermenter.

Le Bacille fait fermenter les substances suivantes : glycérine, mannite, glucose et sucre interverti, saccharose, maltose, lactose, galactose, arabinose, amidon et pommes de terre, dextrine, inuline. Il est sans action sur le tréhalose, l'érythrite, le glycol, le lactate de chaux, le tartrate de chaux, la gomme arabique.

Il fait fermenter directement, sans les intervertir, le saccharose, le maltose et le lactose. Il transforme la dextrine en maltose au moyen d'une diastase spéciale. Il transforme entièrement l'amidon en maltose et en dextrine ; mais cette dernière est transformée en maltose au fur et à mesure de sa production. Il attaque directement l'inuline sans la transformer en lévulose.

Les produits de fermentation sont : de l'alcool butylique normal avec un peu d'alcool isobutylique ; de l'acide butyrique normal, de l'acide acétique, quelquefois un peu d'acide formique, de l'acide carbonique et de l'hydrogène.

C'est la production d'alcool butylique qui paraît bien être le caractère dominant de l'action fermentative ; ses proportions vont habituellement en augmentant avec la durée du phénomène, alors que celles des acides diminuent. L'acide formique, entre autres, semble n'être qu'un produit de souffrance. Dans le même ordre d'idées, plus le ferment est jeune, plus la quantité d'alcool produite est élevée. La complexité des produits obtenus tient probablement à la présence simultanée, dans le milieu de culture, de cellules jeunes, de cellules adultes et de cellules en voie de dégénérescence.

Le *Bacillus orthobutylicus* se distingue du *Vibrion butyrique* de Pasteur et du *Bacillus amylobacter* de Van Tieghem, en ce qu'il ne fait pas fermenter le lactate de chaux et qu'il n'attaque pas la cellulose ; de plus, il ne se colore jamais en bleu par l'iode. Il se sépare nettement du *Bacille amylozyme* de Perdrix, en ce qu'il donne de l'alcool butylique normal, avec les divers hydrates de carbone ; du *Bacillus butyricus* de Botkin, et du *Bacillus saccharobutyricus* de Klecki par les fortes proportions d'alcool par rapport à la quantité d'acides trouvée avec tous les milieux.

BACILLUS FITZIANUS Zopf.

(*Aethylbacillus de Fitz.*)

Fitz (1) l'a isolé d'une infusion de foin, additionnée de glycérine, de petites proportions de sels minéraux et de carbonate de chaux, soumise à l'ébullition pendant cinq minutes. En la mettant à l'étuve à 40°, dès le lendemain il se forme un voile à la surface ; le liquide entre en fermentation deux jours après. D'après Adametz (2), cette espèce se rencontrerait dans l'eau.

(1) Fitz, *loc. cit.*, p. 954.
(2) Adametz, Die Bacterien unserer Trink-und Nutzwässer. Vienne, 1888.

Les Bactéries observées sont des bâtonnets mobiles de 1 μ de large et de longueur variable, que Fitz considérait comme appartenant au *Bacillus subtilis*, mais qui s'en distinguent à coup sûr par leur action physiologique. Elles produisent de fortes proportions d'alcool éthylique aux dépens de la glycérine et probablement des sucres.

Les bâtonnets produisent des spores ovoïdes, de même largeur qu'eux.

Sur plaques, l'espèce forme dans la gélatine des colonies jaunâtres, à centre plus sombre. Celles de la surface sont hyalines et ressemblent à une gouttelette de gélatine.

Sur gélose, il se forme une colonie d'un blanc pur.

Duclaux (1) a rencontré son *Amylobacter ethylicus* avec l'*Amylobacter butylicus* (p. 954). Morphologiquement, les deux espèces sont très semblables, ont même forme, mêmes dimensions, ou à peu près, pour le Bacille adulte et la spore. Les vraies différences résident dans les fonctions physiologiques.

En présence des sucres, la fermentation est rapide, principalement avec addition de craie pour neutraliser les acides à mesure de leur production. Le liquide devient très visqueux ; il se forme de grandes quantités d'alcool éthylique, pouvant dépasser le quart du poids du sucre disparu ; avec l'alcool, il se forme toujours un peu d'aldéhyde ; puis, un peu d'acide acétique et d'acide lactique.

Le lactate de chaux, la mannite, ne subissent aucune fermentation, à l'inverse de ce que produit l'espèce que P. Frankland (2) a nommée *Bacillus ethaceticus*, qui fournit, aux dépens des sucres, de la mannite et autres hydrocarbonés, parmi lesquels le lactate de chaux, de l'alcool éthylique et de l'acide acétique.

Cette production d'acide acétique ne résulte pas d'un phénomène d'oxydation de l'alcool, car la production concomitante d'alcool et d'acide se fait dans les fermentations dans le vide, l'espèce pouvant vivre en aérobie ou en anaérobie ; l'alcool et l'acide proviennent tous deux de modifications de structure de la molécule initiale.

BACILLUS PASTORIANUS.

(*Saccharobacillus Pastorianus de Van Laer.*)

D'après Van Laer (3), ce serait le *ferment de la tourne* de la bière et du vin, décrit et figuré dans les *Études sur la bière* et les *Études sur le vin*, de Pasteur.

Il est très commun dans les bières tournées, d'où on l'isole facilement en faisant des cultures sur plaques avec de la gélatine à la bière pasteurisée.

Les colonies de cette espèce ne se développent que très lentement ; au bout d'une douzaine de jours, elles forment de petits points grisâtres, atteignant à peu près la grosseur d'une moitié de tête d'épingle.

(1) Duclaux, *loc. cit.*, p. 955.

(2) P. Frankland, On a pure fermentation of mannite and glycerine (*Proceedings of the roy. Society*, 1889, p. 345).

(3) Van Laer, Contribution à l'histoire des ferments des hydrates de carbone (*Acad. roy. de Belgique*, 1892).

Ces colonies sont constituées par des bâtonnets identiques à ceux que l'on rencontre dans la bière malade.

Les bâtonnets, de 1 μ de largeur, forment des chaînes de longueur variable, ayant parfois l'apparence de longs filaments, un peu ondulés.

Ils vivent indifféremment en aérobie et en anaérobie.

Sur gélatine au moût de bière, la croissance est très lente. Le milieu n'est pas liquéfié. En strie, il se développe à la surface une petite bande grisâtre, ayant l'aspect de verre dépoli, constituée par un rassemblement de petites colonies rondes juxtaposées; le développement se fait également, mieux même, dans l'épaisseur de la gelée. Les ensemencements sur gélatine peptonisée ordinaire ou sur gélose ne donnent rien.

Le milieu le plus favorable est le moût de bière non houblonné. Ce liquide présente, après quelques jours, une légère opalescence, puis un vrai trouble, en même temps que se forme, au fond du vase, un léger dépôt brunâtre; au bout de quelque temps, le liquide s'est éclairci. Le liquide devient acide et prend le goût des bières tournées. En l'agitant, on observe des ondes soyeuses, dues aux filaments bacillaires et à une substance azotée glutineuse précipitée par les acides formés.

Dans les solutions minérales habituelles, le développement est très pénible et minime.

Le microbe préfère les milieux neutres ou légèrement alcalins ; il vit cependant assez bien dans les liquides légèrement acides. Il meurt entre 55° et 60°. C'est un ferment des sucres et des dextrines. Les produits formés sont surtout de l'acide lactique ordinaire, de l'acide acétique et de petites quantités d'acide formique; en outre, un peu d'alcool éthylique, jusqu'à $0^{gr},50$ pour 3 grammes de sucre transformé, peut-être des traces d'alcool amylique. Les cultures ne donnent jamais la réaction de l'indol.

BACILLUS ACTINOBACTER Duclaux.

(*Actinobacter polymorphus.*)

C'est une Bactérie très répandue, se développant dans les milieux de culture abandonnés à l'air (1). Elle prospere surtout dans le lait, où elle donne de fins bâtonnets immobiles, de 2 à 3 μ de long, isolés ou réunis par deux. La particularité la plus intéressante est la présence autour de chacun d'eux d'une sorte de capsule gélatineuse, ovoïde ou arrondie, de 5 à 6 μ de largeur. Une même capsule peut contenir deux bâtonnets réunis bout à bout. On n'observe jamais de spores; dans les vieilles cultures, les articles peuvent être plus courts. Lorsque le lait est entièrement envahi, il devient gélatineux et possède une grande viscosité.

Dans le bouillon, il se forme des flocons blancs, constitués par des chaînettes de 8 à 10 μ composées d'articles plus courts que ceux observés dans le lait. Il ne se produit jamais de capsule.

(1) Duclaux, Mémoires sur le lait (*Ann. de l'Inst. agron.*, 1882), et *Chim. biol.*, p. 555.

Dans les solutions de glycérine, la capsule reparaît, mais moins forte que dans le lait.

Dans les solutions sucrées, les articles sont courts et donnent un voile glaireux à la surface du liquide ; ils ne présentent pas de capsule.

L'amidon cuit se recouvre d'une pellicule rougeâtre, peu consistante.

Cette espèce peut vivre à l'abri de l'air. Les cultures périssent de 60° à 65° ; il est dès lors probable qu'il ne se forme pas de spores.

Le lait, les solutions sucrées et glycérinées, mais pas l'amidon, sont le siège d'une fermentation active; il se dégage de l'acide carbonique et de l'hydrogène, et en sus, avec le lait seulement, de petites quantités d'hydrogène sulfuré. Il se produit de l'alcool éthylique et un peu d'acide acétique. Dans une solution de lactate de chaux, on n'obtient que de l'acide lactique, pas d'alcool.

L'espèce paraît voisine des *Pneumobacilles* étudiés par Grimbert (p. 774).

BACILLUS TENUIS Duclaux.

(*Tyrothrix tenuis.*)

Duclaux (1) a décrit sous la rubrique commune de *Tyrothrix* toute une série de Bactéries, qu'il a rencontrées dans la putréfaction ou la fermentation des matières albuminoïdes, en particulier de la caséine du lait. Winckler (2) a donné leurs caractères de culture sur divers milieux. Ces formes rentrent toutes évidemment, on pourra s'en convaincre, dans le genre *Bacillus*, tel qu'il est décrit ainsi. Ces espèces sont surtout remarquables par les actions chimiques qu'elles provoquent et par la grande résistance à la chaleur que présentent les spores de quelques-unes d'entre elles. La pullulation de ces êtres dans les fromages est la cause de leur maturation, et y détermine souvent de profondes altérations, étudiées avec soin par le savant auteur cité, qui a déduit de ses recherches des conséquences pratiques très importantes pour l'industrie laitière. Ces mêmes questions ont été étudiées à nouveau, plus récemment, par Adametz (3) et Freudenreich (4) qui, outre les espèces citées par Duclaux, ont reconnu la présence d'autres organismes, Bacilles, Micrococques, Sarcines et Levures, dont la connaissance complète peut être du plus haut intérêt pour l'industrie fromagère.

Le *Bacillus tenuis* se présente sous forme de bâtonnets grêles, de 0,6 μ de large sur 3 μ au moins de long, qui peuvent s'allonger en très longs filaments droits ou enroulés, surtout quand la température

(1) Duclaux, Mémoires sur le lait (*Ann. de l'Inst. agron.*, 1882) ; Chimie biol., p. 639 et suiv. — Le Lait, Paris, J.-B. Baillière, 1887.

(2) Winckler, Zur Charakterisierung der Duclaux'schen Tyrothrixarten (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., I, 1895, p. 609 et 657).

(3) Adametz, Bacteriologische Untersuchungen über den Reifungsprozess der Käse (*Zeitschr. für wissensch. Landwirthschaft*, 1889).

(4) Freudenreich, Recherches préliminaires sur le rôle des Bactéries dans la maturation du fromage de l'Emmenthal (*Ann. de micr.*, II, 1890, p. 257). — *Id.*, Sur quelques Bactéries produisant le boursouflement des fromages (*Ibid.*, vol. II, p. 353). — *Id.*, Des agents microbiens de la maturation des fromages (*Ibid.*, IX, 1897, p. 185). — Voy. aussi : Klecki, Ueber den Reifungprozess der Käse (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., II, 1896, p. 21 et 61). — Weigmann, Ueber zwei an der Käsereifung beteiligte Bakterien (*Centralbl. für Bakt.*, IV, 1898, p. 820).

est basse et l'oxygène peu abondant (fig. 304, *4*). Les bâtonnets ont un mouvement rapide, les filaments ont un mouvement lent, onduleux; les longs filaments ou les longues chaînes d'articles sont immobiles.

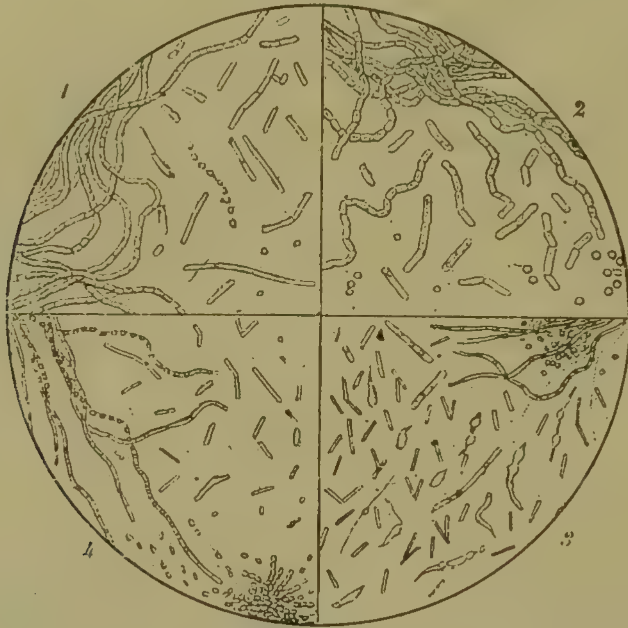


Fig. 304. — 1, *Bacillus geniculatus*; 2, *Bacillus scaber*; 3, *Bacillus virgula*; 4, *Bacillus tenuis* (d'après Duclaux).

C'est une espèce strictement aérobie.

On n'observe aucun développement dans l'acide carbonique, mais il commence dès qu'il y a une trace d'oxygène; il est d'autant plus luxuriant que l'oxygène est plus abondant.

La résistance à la chaleur est remarquable. Les cellules végétatives ne périssent, dans un liquide neutre, qu'entre 90° et 95°; dans un milieu faiblement alcalin, elles peuvent supporter 100°. Les spores résistent à 115°. L'optimum de température pour les cultures est entre 25 et 35 degrés.

Le bouillon ensemencé montre de petits flocons blanchâtres, au bout de quelques heures.

Dans le lait, il se forme une pellicule plissée, peu cohérente. La division en articles s'y fait rapidement et chacun des articles produit une spore ovoïde, un peu renflée. Le voile est bientôt tout parsemé de spores. Le lait se coagule d'abord, sous l'action d'une faible quantité de présure sécrétée par la Bactérie; le coagulum est plus mou que celui produit par la présure ordinaire. La caséine précipitée est dissoute peu à peu par la caséase élaborée; le liquide devient opalescent. On y trouve de la leucine, de la tyrosine, du valérianate d'ammoniaque très caractéristique de cette espèce, et un peu de carbonate d'ammoniaque.

Cette Bactérie, dans le lait, ne touche pas au sucre. Elle n'attaque ni la glycérine, ni le lactate de chaux, ni le glucose; elle vit très péniblement dans le petit-lait et l'urine.

Winckler a obtenu, des cultures de Duclaux, plusieurs variétés de cette espèce. L'une, liquéfiant la gélatine, peptonise fortement la caséine; une autre, ne liquéfiant pas la gélatine lactosée, produit une forte fer-

mentation lactique ; une autre communique aux milieux une fluorescence verdâtre et donne un pigment rougeâtre sur pomme de terre.

BACILLUS FILIFORMIS Duclaux.

(*Tyrothrix filiformis.*)

Ce sont des bâtonnets courts de 0,8 μ de large sur 2 μ environ de long, isolés, unis par deux ou en longues chaînes (fig. 305, *3*). Ils présentent un mouvement lent, sans ondulations. Il se forme des spores dans les articles, la plupart du temps à une extrémité. Le bâtonnet se renfle à l'endroit où se produit la spore, et prend la forme d'un fuseau ou d'une massue.

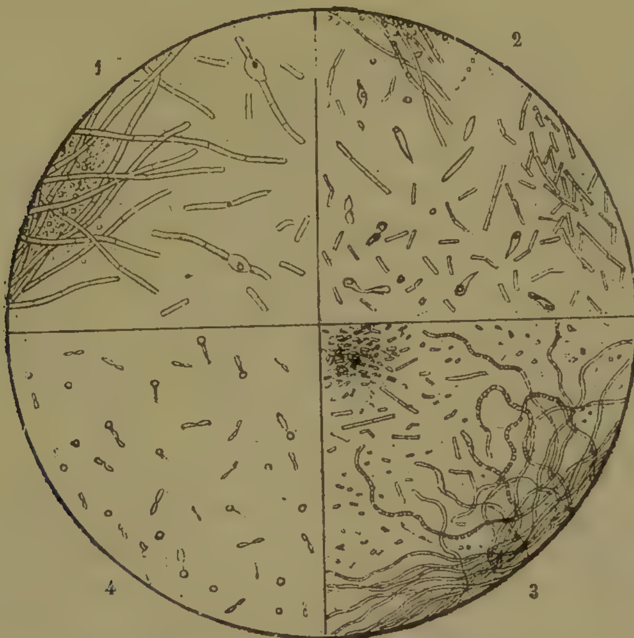


Fig. 305. — 1, *Bacillus catenula* ; 2, *Bacillus urocephalus* ; 3, *Bacillus filiformis* ; 4, *Bacillus claviformis* (d'après Duclaux).

Le lait inoculé montre en peu de temps, à la surface, une pellicule plissée, formée de filaments, de globules de graisse et de caséine, ou quelquefois des flocons qui nagent dans le liquide. On n'y remarque pas de coagulum, ou seulement un coagulum très léger ; en deux ou trois jours, la masse devient subitement transparente, à peine louche.

Cette espèce trouble le bouillon en quelques heures, puis y forme une pellicule épaisse, blanche, veloutée, qui s'élève même sur les parois du vase. Quand le liquide est épaissi, le voile se disloque et tombe. Il s'y est produit des spores qui constituent une bonne partie du dépôt.

La gélatine est rapidement liquéfiée en forme de sac ; dans le liquide, se trouvent des flocons grisâtres et à la surface une pellicule blanche épaisse.

La culture sur pomme de terre est une pellicule épaisse, d'abord blanche, puis devenant jaunâtre à la longue.

Sur gélose, il se forme un revêtement blanc, muqueux.

Les bâtonnets peuvent supporter une chaleur de 100° dans du lait frais

légèrement alcalin. Les spores meurent vers 100°; dans le lait, elles peuvent produire d'autres cultures après avoir été portées à 120 degrés.

Le *Bacillus filiformis* respecte le sucre de lait et la glycérine. On trouve dans le liquide provenant de ses cultures dans le lait, de l'urée, de la leucine, de la tyrosine, du carbonate d'ammoniaque et un mélange de valérianate et d'acétate d'ammoniaque.

BACILLUS DISTORTUS Duclaux.

(*Tyrothrix distortus.*)

Dans le lait, ce sont des bâtonnets granuleux, de 0,9 μ de largeur sur une longueur cinq à dix fois plus grande. Lorsqu'ils sont isolés, ils ont des mouvements vifs et un peu flexueux ; en chaînettes de quatre à cinq articles, le mouvement est plus lent ; ils sont tout à fait immobiles lorsqu'ils sont en chaînes plus longues.

Le lait devient peu à peu visqueux ; il s'y forme un précipité de caséum, qui est redissous. Le liquide, incolore et fluide, se teint en jaunâtre et prend une consistance gélatineuse. Les articles sont gonflés, ont les membranes gélifiées; beaucoup ont donné des spores. Le liquide contient les mêmes substances que celles trouvées avec l'espèce précédente.

La gélatine est rapidement liquéfiée ; il se forme un épais dépôt au fond du liquide, et une épaisse pellicule à la surface, pas de bulles de gaz. Dans les vieilles cultures, le liquide est coloré en brun.

Sur gélose, il se forme une bande gris blanchâtre, brillante, à bords transparents et finement découpés.

Sur pomme de terre, on obtient des colonies isolées, sèches, d'abord blanc jaunâtre, puis brunâtres.

C'est une espèce aérobie. Les cellules végétatives résistent à 90-95° ; les spores à 100-105 degrés.

BACILLUS GENICULATUS Duclaux.

(*Tyrothrix geniculatus.*)

A l'air et dans le lait, il se développe en flocons formés de filaments ondulés, souvent brusquement coudés, enchevêtrés les uns dans les autres (fig. 304, *1*), nageant dans le liquide et ne se réunissant jamais en voile à la surface. La largeur est de 1 μ ; les filaments peuvent atteindre 10 μ ; la longueur des articles en bâtonnets n'est pas signalée. Ces éléments sont toujours immobiles. Ils produisent des rangées de spores.

Dans le bouillon, en six heures à 25°, il a déjà donné des flocons visibles. En vingt-quatre heures, le liquide limpide est rempli de longs filaments flottants. La production de spores est plus abondante que dans le lait ; il s'en forme de longues rangées, qui sont mises en liberté par dissolution de la membrane et tombent au fond du vase où elles forment un dépôt blanchâtre. Le liquide reste clair.

Dans la gélatine, en piqûre, la liquéfaction est lente ; le long de la strie, se développent de nombreux filaments radiaires, ramifiés, donnant l'aspect d'une radicelle.

Sur pomme de terre, il se produit un revêtement grisâtre, mat, verruqueux.

Le lait où s'est développée cette Bactérie contient de la leucine, de la tyrosine, du valérianate et de l'acétate d'ammoniaque, plus une matière très amère.

Les cellules sont tuées dans le lait à une chaleur de 80°, maintenue quelques minutes ; les spores supportent 105°, mais meurent au-dessus.

BACILLUS TURGIDUS Duclaux.

(*Tyrothrix turgidus.*)

C'est une espèce aérobie, dont les articles courts, de 1 μ de large et d'une longueur double ou triple, à extrémités carrées, sont rarement isolés, plus souvent réunis en chaînes souvent très grandes. Les articles et les filaments sont immobiles.

Dans le lait, il produit un coagulum léger ; le précipité est dissous, le liquide devient jaune, transparent. Il se forme à la surface une pellicule résistante, composée de filaments feutrés, empâtés dans de la matière albuminoïde. Beaucoup d'articles donnent des spores. La réaction du liquide est alcaline; il contient du carbonate et du butyrate d'ammoniaque. Ce dernier corps est beaucoup plus abondant pendant la fermentation qu'après ; il est consommé peu à peu. On trouve en outre de la leucine et de la tyrosine. Dès les premiers jours de la fermentation, le liquide développe une odeur analogue à celle des caves à fromage.

Le sucre n'est pas modifié. Cette Bactérie vit péniblement dans l'amidon et la glycérine, pas du tout dans le lactate de chaux.

La gélatine est lentement liquéfiée ; à la surface du liquide, se forme une pellicule blanche.

Sur pomme de terre, la culture est minime, blanchâtre, mate.

L'optimum de température est de 25 à 30°. Les bâtonnets adultes sont tués à 80°, les spores à 115 degrés.

BACILLUS SCABER Duclaux.

(*Tyrothrix scaber.*)

Ce sont de courts bâtonnets de 1,1 μ à 1,2 μ de largeur et longs à peine du double, d'aspect granuleux, unis le plus souvent en très longues chaînes (fig. 304, *2*). Ils sont mobiles quand ils sont jeunes, mais à mouvements lents et lourds ; les longues chaînes sont presque immobiles.

Ils forment sur les liquides une pellicule fragile, dont les lambeaux restent attachés aux parois du vase. Ce voile montre de nombreuses spores.

Le lait ne se coagule pas, mais prend peu à peu et très lentement la couleur et l'aspect du petit-lait ; les diastases, qui sont cependant manifestement produites, sont très peu actives. Le liquide est alcalin et a une odeur faible; il contient de la leucine, de la tyrosine, du carbonate et du valérianate d'ammoniaque.

La végétation se fait mal dans le lait et bien mieux dans le bouillon ou la gélatine. Cette Bactérie demande des aliments plus facilement

assimilables ; aussi, dans les fromages, elle ne se développe qu'en dernier lieu, lorsque ses congénères ont préparé des matières nutritives. Elle attaque, lentement il est vrai, le sucre de lait et le sucre de canne. Elle est véritablement aérobie, ne se multiplie ni dans les couches profondes ni en présence d'acide carbonique.

La gélatine est lentement liquéfiée.

Les cultures sur pomme de terre sont épaisses, muqueuses, d'un blanc jaunâtre sale.

Les cellules végétatives sont tuées entre 90 et 95°; les spores entre 105 et 110 degrés.

BACILLUS VIRGULA Duclaux.

(*Tyrothrix virgula.*)

Il ne se développe que difficilement dans le lait ou dans les solutions d'albumine; mieux, mais encore péniblement, dans la gélatine et dans le bouillon. C'est une espèce aérobie.

Ce sont des bâtonnets minces, cylindriques, de 0,5 μ de large et 2 μ environ de longueur, isolés ou en chapelets d'un petit nombre d'éléments (fig. 304, *3*). Ces articles sont immobiles et présentent souvent à une extrémité un renflement irrégulier, où se forme la spore sphérique, de même largeur que le bâtonnet primitif. Le liquide de culture contient du carbonate et un peu de butyrate d'ammoniaque.

BACILLUS UROCEPHALUS Duclaux.

(*Tyrothrix urocephalum.*)

Cette Bactérie est très répandue; elle doit être un des principaux agents de la putréfaction des matières animales. Elle vit du reste aux dépens de presque toutes les substances azotées. Elle se développe au mieux à l'abri de l'air, en anaérobie, mais peut cependant croître en présence d'oxygène.

Les éléments (fig. 305, *2*) sont des bâtonnets cylindriques, de 1 μ de large sur 3 μ au moins de long, très mobiles, isolés par deux ou réunis en longues chaînes. Beaucoup se renflent à une extrémité et forment à cet endroit une spore sphérique.

Le lait, où l'on a ensemencé cette espèce, montre à la surface des îlots transparents, gélatineux, qui peuvent envahir la masse, sans cependant lui donner une consistance gélatineuse. Après quelque temps, on a un liquide louche, surmontant un dépôt épais, floconneux, où se sont formées de nombreuses spores. Quand l'oxygène a disparu ou que la culture se fait dans l'acide carbonique, il se produit un dégagement gazeux. Les gaz sont de l'acide carbonique et de l'hydrogène; un peu de ce dernier donne de l'hydrogène sulfuré. Le lait a alors une odeur désagréable, qui peut être alliacée, putride, lorsque l'oxygène fait complètement défaut. On y trouve de la leucine, de la tyrosine et du valérianate d'ammoniaque ou d'ammoniaques composées.

Sur gélatine, en piqûre, on obtient d'abord une culture blanche ; puis, dans toute la gelée, se forment des bulles de gaz. Enfin, la liqué-

faction commence et progresse lentement. A la surface du liquide, on trouve de nombreuses bulles de gaz.

Sur pomme de terre, la culture est blanc jaunâtre, brillante, brunissant à la longue.

Les cellules végétatives meurent entre 90 et 95 degrés. Les spores périssent de 100 à 105° dans un liquide neutre, de 95 à 100° dans un liquide légèrement acide.

Certaines particularités rapprochent cette Bactérie du *Bacille de la fermentation butyrique normale*; le dernier se distingue par son caractère anaérobie exclusif et parce qu'il attaque le lactate de chaux et la glycérine, où ne vit pas l'espèce de Duclaux.

BACILLUS CLAVIFORMIS Duclaux.

(*Tyrothrix claviformis.*)

C'est un anaérobie pur. Les articles sont des petits bâtonnets de moins de 1 μ de large sur une longueur qui n'atteint pas le double, isolés ou réunis par deux, mais ne formant jamais de chaînes. Une extrémité présente un renflement sphérique, bien régulier, où se forme une spore ronde, d'un diamètre à peu près double de celui du filament (fig. 305, *4*).

Le lait est un très bon milieu de culture ; il se coagule et le précipité commence déjà à se dissoudre après vingt-quatre heures. Il se dégage de l'acide carbonique et de l'hydrogène, deux volumes du premier pour un volume du second. La caséine et le lactose sont attaqués. Le liquide est légèrement acide et a une odeur faible, non désagréable, rappelant celle de poire ou de coing. On y trouve de l'alcool éthylique et de faibles proportions d'alcools supérieurs, de la leucine, de la tyrosine et de l'acétate d'ammoniaque. Au début, quand le sucre n'est que peu atteint et que l'action n'a encore porté que sur la matière albuminoïde, l'odeur est putride.

BACILLUS CATENULA Duclaux.

(*Tyrothrix catenula.*)

Il se développe mieux en l'absence d'oxygène, mais peut cependant se cultiver aussi à l'air quand le milieu est abondamment ensemencé. Dans le premier cas, on observe des articles courts, ténus, de 0,6 μ de large, immobiles; dans le second cas, les bâtonnets sont plus épais; ils mesurent 1 μ de large sur 4 à 5 μ de long, on les trouve isolés et alors très mobiles, ou en chaînes, doués de mouvements plus lents. Certains se renflent en olive ou en fuseau et produisent, en leur milieu, une spore volumineuse, ovale, plus large que le filament primitif (fig. 305, *1*).

Sous son action, le lait devient d'abord un peu acide, la caséine se coagule lentement en flocons qui se déposent ; puis le précipité est redissous peu à peu. Le liquide renferme de la leucine, de la tyrosine, de l'acide butyrique, libre ou combiné en partie avec de l'ammoniaque. L'action s'arrête assez vite, à cause de la forte quantité d'acide produit, qui nuit à la vitalité de la Bactérie; on peut la faire durer plus longtemps en ajoutant préalablement au liquide de la craie qui neutralise une

partie de l'acide. L'espèce n'a aucune action sur la caséine précipitée d'avance par la chaleur ou les acides.

Les bâtonnets sans spores meurent lorsqu'ils sont chauffés à 90°; les spores périssent à 105 degrés.

Il se distingue du *Bacillus butyricus* par la propriété qu'il a de vivre en présence d'oxygène et l'impossibilité de vivre aux dépens de lactate de chaux soit à l'air, soit sans air.

BACILLUS PUTRIFICUS COLI Bienstock.

Bienstock (1) l'a isolé du contenu de l'intestin. D'après lui, ce serait un des agents les plus actifs de la putréfaction des matières albuminoïdes et en particulier de la fibrine (2).

C'est un bâtonnet mince, de 5 à 6 µ de long, à extrémités arrondies, très mobile, à mouvements oscillants. Chez certains milieux, la gélatine liquéfiée surtout, il peut donner de longs filaments.

Il forme facilement des spores terminales, plus grosses que le bâtonnet qui les a produites, de telle sorte que l'élément sporulé a souvent l'aspect d'une baguette de tambour. On en obtient surtout dans les jeunes cultures sur gélose simple ou les vieilles cultures en gélose glucosée.

Les bâtonnets se colorent bien aux méthodes ordinaires et restent colorés par la méthode de Gram.

Ce microbe est strictement anaérobie. Il donne facilement des cultures dans les conditions voulues.

Dans la gélatine glucosée alcaline, en piqûre, on voit, après trois ou quatre jours, à 15°-20°, le long de la piqûre, un grand nombre de petites colonies brillantes, grosses comme une pointe d'épingle. Celles qui se trouvent dans la moitié supérieure ne grandissent pas; celles de la partie inférieure liquéfient la gélatine autour d'elles et donnent de petites bulles, liquides, troubles, qui confluent avec dégagement gazeux et amènent une liquéfaction complète. La couche superficielle reste solide sur une épaisseur de quelques millimètres. Dans le fond du liquide il se forme un dépôt très cohérent.

Dans la gélose glucosée, le développement se fait à 1 centimètre au-dessous de la surface et affecte souvent la forme d'un cône opalescent, délié, dont le sommet est en haut. Puis tout devient trouble jusqu'à 3 millimètres au-dessous de la surface; souvent la gélose est brisée par un dégagement de gaz.

L'action du microbe sur la fibrine est très énergique. Elle est très rapidement dissoute avec dégagement gazeux. Le liquide trouble est alcalin ; l'odeur, très désagréable au début, devient peu à peu aromatique. Il se dégage de l'hydrogène sulfuré. Le liquide contient des amines, de la peptone, de la leucine, de la tyrosine, de l'acide paraoxyphénylpropionique, des acides butyrique et valérianique ; il n'y a ni indol ni scatol.

Le *Colibacille* et le *Bacillus lactis aerogenes* entravent bien nettement

(1) Bienstock, Ueber die Bakterien des Fœces (*Zeitschr. für klin. Med.*, VIII, 1884).

(2) Bienstock, Untersuchungen über die Aetiologie der Eiweissfäulniss (*Arch. für Hygiene*, XXXVI, 1899). — Recherches sur la putréfaction (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 854).

cette décomposition de la fibrine ; le lait stérilisé la favorise.

Le microbe n'est pas pathogène pour les animaux d'expérience.

Le *Bacillus cadaveris sporogenes* de Klein (1) est bien voisin.

BACILLUS ZOPFII Kurth.

Atlas de microbiologie, pl. xlii.

Il a été rencontré par Kurth (2) dans l'intestin et le contenu de l'appendice vermiculaire de poulets morts d'une affection contagieuse peu connue. Le même auteur, l'ayant retrouvé dans le contenu de l'appendice vermiculaire de deux autres individus sains, le considère comme saprophyte. Je l'ai isolé du sang du foie de canards atteints d'une maladie épidémique non décrite, en sacrifiant des individus avant la mort, pour éviter l'introduction dans le sang d'organismes étrangers. Les inoculations n'ont cependant aucun effet sur les divers animaux d'expérience. Il se rencontre fréquemment dans l'eau et dans la terre.

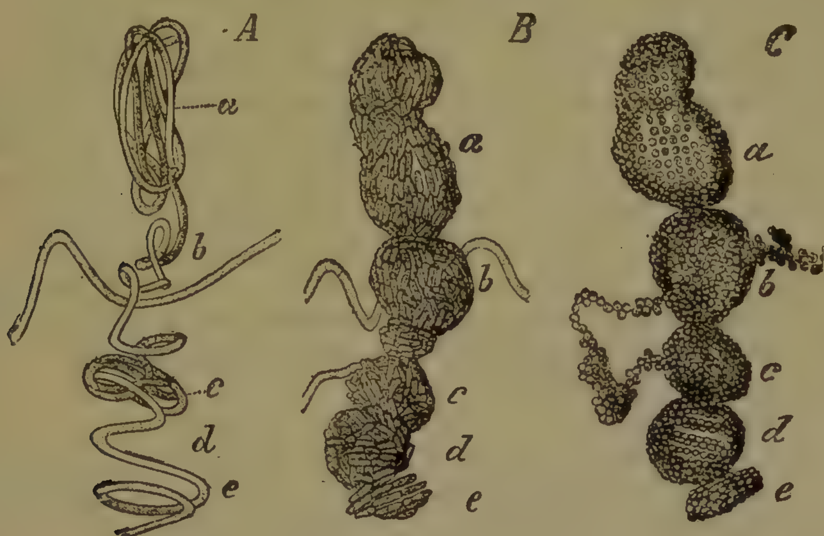


Fig. 306. — *Bacillus Zopfii.*

A, filaments; B, amas de bâtonnets; C, amas de coccus (spores) (Zopf, d'après Kurth).

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Ce sont des bâtonnets de 2 μ à 5 μ de long sur 0,7 μ à 1 μ de large, très mobiles, pouvant croître en longs filaments droits, ondulés, parfois pelotonnés sur eux-mêmes, formant ainsi de distance en distance des sortes de *nœuds* de grosseur variable (fig. 306, A, *a*, *c*). Ces filaments se segmentent, à un moment donné, et se montrent formés de bâtonnets nouveaux, en files ou en amas (fig. 306, B, *a*, *b*, *c*). Enfin, lorsque la culture vieillit, les masses de bâtonnets se transforment en éléments sphériques (fig. 306, C),

(1) Klein, Ein Beitrag zur Bakteriologie der Leichenverwesung (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 278).

(2) Kurth, *Botanische Zeitung*, 1883.

que Kurth décrit comme coccus, mais que toutes leurs propriétés peuvent faire considérer comme des spores. Portés dans un milieu neuf, ils ne se divisent jamais, mais se transforment directement en un bâtonnet. Ils se colorent plus lentement que les bâtonnets ordinaires et gardent plus longtemps la couleur. La dessiccation, qui fait périr très vite les bâtonnets, respecte ces coccus. Tandis qu'une température de 50° tue infailliblement les premiers, les éléments ronds ne meurent qu'au-dessus de 70 degrés. Ce sont là, il faut l'avouer, des caractères qui conviennent plutôt à des spores qu'à des *Micrococcus*. D'ordinaire, six jours après l'ensemencement dans la gélatine, les bâtonnets ont disparu et cédé la place aux coccus.

Coloration. — Les bâtonnets *restent colorés* par la méthode de Gram. Les méthodes spéciales font voir de nombreux cils disposés tout autour des éléments.

Cultures. — L'espèce se cultive facilement sur les milieux habituels en aérobie ou en anaérobie.

Cultures sur plaques de gélatine. — L'aspect des colonies est assez caractéristique, bien que plusieurs autres espèces assez peu connues jusqu'ici présentent un aspect similaire. Elles forment, en deux ou trois jours, de petites masses blanchâtres, floconneuses, ressemblant tout à fait macroscopiquement à un jeune mycélium de Moisissure. Les fines ramifications sont constituées par des bâtonnets accolés longitudinalement en nombre variable, peu considérable d'ordinaire, et disposés en longues files dont l'épaisseur varie par endroits, suivant le nombre des éléments qui s'y trouvent. On peut rencontrer de longues files sinueuses formées d'un ou deux bâtonnets seulement, ou des nœuds épais produits par l'accolement d'un grand nombre de ces éléments. La gélatine se liquéfie lentement si la plaque est maintenue intacte et à l'abri de toute dessiccation. Des prolongements sinueux tordus partent de la colonie pour se répandre tout autour.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* dans la gélatine, il se montre, en vingt-quatre heures, une mince culture dans le canal et une petite colonie transparente en relief à la surface. Deux jours après, on observe des filaments déliés, blanchâtres, qui partent du sillon de la piqûre et s'irradient dans la gelée ambiante. Le développement de ces filaments continue les jours suivants ; il s'en produit surtout à la partie supérieure de la gelée dont les couches superficielles offrent un trouble floconneux assez prononcé jusqu'à 1 ou 2 millimètres de profondeur. Les filaments rapprochés de la surface se courbent vers le haut et se dirigent vers la partie exposée à l'air ; ceux qui y aboutissent se terminent par un épaississement en forme de bouton. La colonie superficielle s'est peu accrue pendant ce temps. La gélatine commence à se ramollir après assez longtemps, puis se liquéfie dans une faible étendue. Il se forme une cupule de liquéfaction autour de laquelle se trouvent encore de fins prolongements radiaires. Le liquide est clair et surmonte un dépôt floconneux blanc.

Si l'on inocule *en strie* un tube de gélatine à surface inclinée, il se produit très vite, de chaque côté du sillon, dans la masse de gelée, tout un chevelu de filaments irréguliers, sinueux, enchevêtrés, mais aucune culture à la surface. La liquéfaction a lieu, très tardivement toutefois.

Cultures sur gélose. — Sur gélose, à 30°, il se forme au début une très mince culture blanc jaunâtre le long de la strie et des deux côtés

dans la gelée, progressivement, des amas blanchâtres, ressemblant à du fin duvet, ou des ramifications sinueuses plus épaisses. La plus grande partie de la gelée peut être envahie et devenir opaque. A la surface libre, on remarque l'apparition de petites gouttelettes transparentes.

Cultures dans le bouillon. — Ensemencée dans du bouillon, cette espèce y développe d'abord un voile mince et fragile; le liquide est trouble. Le voile se brise et tombe; le bouillon reste trouble. Les bâtonnets de ces cultures sont un peu plus longs que les autres, ils mesurent de 3 μ à 5 μ; beaucoup montrent à une extrémité une grosse spore elliptique, de 2 μ de long sur 1,5 μ de large.

Cultures dans le lait. — Le lait n'est pas coagulé et présente la réaction amphotère.

Cultures sur pomme de terre. — C'est un revêtement blanc grisâtre.

L'aspect si particulier des cultures sur milieux solides a peut-être pour cause la faible résistance de ce Bacille à la dessiccation, qui l'oblige à éviter le contact immédiat de l'air.

Ce microbe est probablement une espèce des putréfactions.

Cette espèce, bien que très voisine de celles qui ont été réunies par Hauser sous le nom de *Proteus*, en est certainement distincte, quoi qu'en ait prétendu Schedtler (1). J'en ai acquis la conviction par l'étude comparée de ces deux types. Elle s'en rapproche cependant beaucoup par certains caractères, en particulier le déplacement dans la gélatine des filaments des cultures, qui, moins sensible que chez les *Proteus*, n'en est pas moins facilement appréciable. C'est une des formes qui rattachent si intimement les *Proteus* aux Bacilles vrais qu'il n'est guère possible à un observateur en ayant fait une étude approfondie de les séparer génériquement. D'autres types peu connus encore doivent se grouper autour du *Bacillus Zopfii*, en particulier une espèce que Vignal (2) a isolée de la salive : c'est son *Bacille d* qu'il assimile à tort au *Bacillus alvei*.

BACILLUS VULGARIS Hauser.

(*Proteus vulgaris.*)

Atlas de microbiologie, pl. XLI.

Hauser (3) a cru devoir créer le genre *Proteus* pour trois espèces de Bactéries qu'il a rencontrées fréquemment dans des putréfactions de substances animales. Aucun des caractères qu'elles présentent ne peut motiver leur séparation du genre *Bacillus*; l'une d'entre elles, son *Proteus Zenkeri*, est même tout à fait différente des deux autres. Les raisons qui motivent cette opinion ont déjà été exposées (p. 481). La ramification des colonies se rencontre chez d'autres *Bacillus* à un degré plus prononcé encore; le déplacement des branches est une simple affaire de milieu et de température; la migration des bâtonnets dans la gélatine visqueuse s'observe chez beaucoup d'espèces mobiles. Le soi-disant polymorphisme des éléments dépend directement des variations des milieux. On l'observe du reste à un même degré chez

(1) Schedtler, Beiträge zur Morphologie der Bacterien (*Virchow's Archiv*, CVIII, 1887, p. 30).
(2) Vignal, Recherches sur les microorganismes de la bouche (*Arch. de phys.*, 1886).
(3) Hauser, Ueber Fäulnissbacterien. Leipzig, 1885.

d'autres espèces ; les formes spiralées, surtout ses *Spirulines*, sont des filaments ondulés, enchevêtrés ; les coccus sont de véritables spores. Rien ne permet de séparer un genre *Proteus* ; si l'on veut chercher à placer ces formes, surtout les deux premières, dans la série des espèces suffisamment connues, on leur reconnaîtra de grandes affinités avec le *Bacillus Zopfii*.

Bordoni-Ufreduzzi (1) rapproche des *Proteus* de Hauser une Bactérie qu'il a isolée du sang d'un homme mort en présentant des symptômes de septicémie. Il lui attribue tout à fait inconsidérément le nom de *Proteus hominis capsulatus*, tout en avouant que le seul caractère qui peut la rapprocher de celles de Hauser est la production de bâtonnets ou de filaments, suivant les conditions des cultures, chose que nous savons très ordinaire chez beaucoup de vrais Bacilles.

Il est impossible pour tout observateur consciencieux de séparer ces espèces du genre *Bacillus*, tel qu'il est compris actuellement. C'est donc sous ce nom générique que nous les décrirons.

Le *Bacillus vulgaris* est très commun dans les putréfactions de viande ; Escherich l'a obtenu du méconium de nouveau-né. Je l'ai rencontré en abondance dans le produit du raclage de la muqueuse intestinale d'un individu mort de dysenterie ; Mouginet (2), dans des recherches faites à mon laboratoire, l'a retrouvé plusieurs fois dans les selles de dysentériques, mises en culture aussitôt l'émission.

Cette même espèce a été signalée plusieurs fois dans les aliments putréfiés, dont certains avaient même occasionné des accidents d'intoxication putride graves ou mortels. Elle joue certainement un rôle dans la pathogénie de ces intoxications.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Ce sont des bâtonnets mobiles, à mouvements souvent assez vifs, mesurant 1,25 μ de longueur et 0,6 μ de largeur, isolés ou réunis par deux. La longueur est toutefois très variable, suivant les conditions de milieux ; au début des cultures, on trouve des bâtonnets plus longs et un peu plus gros, ayant 3 ou 4 μ de long sur 0,8 μ de large. Ces longs éléments présentent parfois un étranglement médian et se montrent distinctement articulés sur les préparations colorées. On obtient enfin des filaments atteignant jusqu'à 80 μ de long, droits ou courbés, ondulés en forme de Spirilles ou bouclés. C'est à cette dernière forme, tout accidentelle et jamais constante, qu'on a appliqué la dénomination de *Spiruline*. Les grands bâtonnets pourraient parfois avoir des cils vibratiles bien visibles. Les formes d'involution sont fréquentes, surtout dans les cultures âgées ; on trouve sur le parcours des articles ou des filaments des renflements sphériques ou ovoïdes, pouvant mesurer 1,6 μ de diamètre.

Coloration. — Il se colore facilement aux méthodes ordinaires. Les solutions phéniquées donnent de très bons résultats. Les éléments pris dans les cultures jeunes *restent colorés* par la méthode de Gram ; ceux des cultures aiguës gardent mal la coloration.

(1) Bordoni-Ufreduzzi, Ueber den Proteus hominis capsulatus (*Zeitschr. für Hygiene*, II, p. 333).

(2) Mouginet, Quelques bactéries des putréfactions ; contribution à l'étude de la pathogénie des empoisonnements par les viandes putréfiées. Thèse de Nancy, 1891.

Les procédés spéciaux de coloration des cils, surtout celui de Van Ermenghem, montrent les cils longs et nombreux tout autour des éléments (fig. 307).

Cultures. — Il croît très rapidement sur tous les milieux, même à des températures très basses, en aérobie et tout aussi bien en anaérobie. L'optimum semble être de 25 à 35 degrés.



Fig. 307. — *Proteus vulgaris* avec cils vibratiles.

Cultures sur plaques de gélatine. — Elles ont un aspect très caractéristique. En vingt-quatre heures, à 20°, il apparaît de petites colonies rondes, jaunâtres, presque transparentes, se montrant grises et finement granuleuses à un grossissement moyen. Arrivées à la surface, elles donnent une petite tache à centre jaunâtre, opaque et à bords

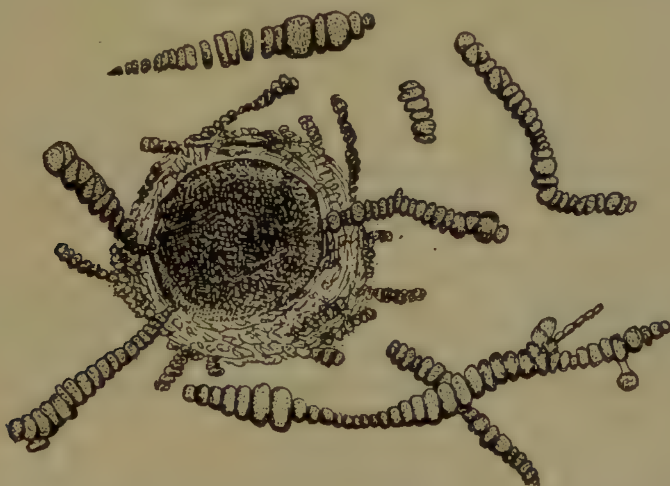


Fig. 308. — Colonie de *Bacillus* (*Proteus*) *vulgaris*, sur plaques de gélatine. 80/1.

hyalins. La périphérie prend un contour irrégulier et émet des prolongements d'abord peu nombreux, puis en plus grand nombre. Les colonies, en peu de temps, ont pris l'aspect représenté figure 308. La colonie primitive forme au centre une masse opaque, visqueuse, entourée

d'une zone filamenteuse. De la masse centrale et de la zone périphérique partent toute une série de prolongements de forme bizarre, qui vont en s'irradiant dans la gelée ambiante. Ce sont des boudins plus ou moins longs, sinueux ou tortueux, parfois en tire-bouchons, de diamètre très irrégulier, qui sont formés par l'accolement en chapelet d'articles de grandeur très irrégulière, de forme ovoïde le plus souvent. Ces articles sont constitués par des bâtonnets, placés côte à côte, en nombre plus ou moins considérable, suivant l'épaisseur de la ramification; les très fins tractus peuvent n'en avoir qu'un seul ou un petit nombre en épaisseur. Ces prolongements, le plus souvent fusiformes, tiennent à la colonie par un pédicule délié. Ils s'en séparent souvent et semblent alors libres dans la gélatine. Lorsque la gelée est peu compacte, qu'elle ne renferme guère plus de 6 p. 100 de son volume de gélatine, et qu'on maintient les plaques à 22°, température à laquelle le milieu est visqueux, on remarque facilement que ces prolongements moniliformes sont animés de mouvements bien évidents. Ils se déplacent lentement dans la gelée, pouvant, à cette température, avancer de 1 millimètre par minute. Ils s'éloignent même suffisamment de la colonie qui les a produits, pour qu'on ne reconnaisse plus aucun rapport entre eux. En peu de temps, toute la surface de la gélatine est recouverte de ces colonies errantes. La liquéfaction se fait alors très vite. Les mouvements s'amoindrissent à mesure que la température baisse; à 10°, ils ne sont plus appréciables. Avec de la gelée qui renferme 10 p. 100 de gélatine ou plus, on n'observe pas cette migration des colonies.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* dans la gélatine, à 10 p. 100, la liquéfaction est rapide; le liquide est légèrement trouble et a une réaction alcaline; il a laissé déposer un sédiment blanchâtre, assez léger. La culture dégage une odeur de putréfaction désagréable. En l'absence d'air, la liquéfaction est plus lente.

Cultures sur gélose. — Sur gélose, il se forme une couche muqueuse, gris blanchâtre, humide, s'étendant sur toute la surface libre.

Cultures sur pomme de terre. — Le développement n'est guère abondant; c'est une petite bande blanc jaunâtre, qui se forme sur la strie.

Cultures dans le bouillon. — Dans le bouillon, la végétation est abondante; il se produit des gaz à odeur putride. Il ne se forme pas de voile à la surface. Lorsqu'on ajoute du soufre au bouillon, il se dégage un peu d'hydrogène sulfuré.

Cultures dans le lait. — Le lait est coagulé au bout de vingt-quatre heures, surtout lorsque la culture est en surface, au contact de beaucoup d'air; le coagulum tombe au fond et est attaqué lentement et finalement dissous. Le liquide est brunâtre, fortement alcalin et dégage une odeur putride.

Propriétés biologiques.

Vitalité. — Ce microbe ne paraît pas être très résistant. Il périt vite à une température de 60 degrés.

Produits formés dans les cultures. — Les différents milieux sont profondément modifiés par le développement du *Proteus vulgaris*.

L'action sur les matières albuminoïdes est tout particulièrement intéressante.

Les matières albuminoïdes non modifiées, albumine de l'œuf, fibrine, viande, sont relativement peu attaquées, comme l'ont montré Bienstock (1) et Feltz (2). Au contraire, celles qui ont déjà subi un gonflement, une hydratation, surtout une transformation en peptones, subissent sous son influence des modifications importantes. Le milieu devient fortement alcalin, et développe une forte odeur de putréfaction. Il se dégage de notables quantités d'hydrogène sulfuré. Il se forme des proportions notables d'indol. Gaillard (3) a trouvé qu'il se formait en plus de l'hydrogène, de l'acide carbonique, des acides lactique, butyrique, acétique, formique, et d'autres acides supérieurs. Quand toutes les réactions sont achevées, il ne reste plus dans les milieux que des traces de peptones.

La réaction de l'indol ne s'obtient donc pas toujours; comme Feltz l'a bien montré, pour qu'on la constate il est nécessaire d'offrir au microbe certains composés albuminoïdes, certaines peptones, particulièrement les peptones Collas ou Chassaing, ou le bouillon de panse de Martin (p. 591).

Aux dépens des matières sucrées, il se dégage des gaz et pas d'odeur; les gaz sont de l'acide carbonique et de l'hydrogène.

L'urée subit une fermentation ammoniacale énergique.

Les nitrates sont réduits en nitrites et même en ammoniaque.

Tito Carbone (4) a isolé plusieurs ptomaïnes des cultures de cette espèce sur la bouillie de viande. Il a signalé la présence de la choline, de l'éthylène diamine, de la gadinine, de la triméthylamine, qui se trouve communément dans la putréfaction du poisson. C'est à l'ensemble de ces produits que le microbe doit ses propriétés toxiques.

Inoculation expérimentale.

L'injection sous-cutanée d'une petite quantité de liquide de culture détermine une inflammation au point d'inoculation, pouvant causer une suppuration étendue. Les injections intraveineuses ou les injections sous-cutanées de fortes doses déterminent une intoxication générale avec des symptômes graves, où dominent de la dyspnée, de la cyanose, des crampes musculaires, pouvant occasionner la mort. Les liquides de culture, filtrés sur porcelaine, occasionnent les mêmes accidents; il est à penser, dès lors, que les effets toxiques sont dus à des produits solubles, sécrétés par la Bactérie et accumulés dans le milieu où elle vit.

Il est possible, à l'aide des toxines brutes, d'arriver à immuniser des animaux qui supportent alors facilement de fortes doses de cultures virulentes. Le sérum des animaux immunisés a même été préconisé pour le traitement des affections que l'on pense être déterminées par ce microbe.

(1) Bienstock, Recherches sur la putréfaction (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 854).

(2) Feltz, Le *Proteus vulgaris*. Thèse de pharmacie de Paris, 1900. Paris, J.-B. Baillière.

(3) Gaillard, Contribution à l'étude chimique du groupe *Proteus*. Thèse de Paris, 1897.

(4) Tito Carbone, Ueber die von Proteus vulgaris erzeugten Gifte (*Centralbl. für Bakt.*, 4 décembre 1890).

Agglutination. — Le sérum d'animaux immunisés produit une agglutination marquée dans les cultures bien homogènes du microbe. Ce peut être là un bon moyen de diagnostic des infections protéobacillaires (1).

Habitat et rôle dans la nature.

C'est un microbe très commun dans toutes les putréfactions, surtout de matières animales; on peut le regarder comme caractéristique de ces processus.

Il est commun dans le sol, les eaux qui ont été souillées par des matières putrides.

Il se rencontre fréquemment dans le contenu intestinal de l'homme à l'état normal.

On ne peut pas considérer ce microbe comme un saprophyte simple. Il paraît pouvoir réellement jouer un rôle pathogène et déterminer de véritables infections. D'un autre côté, il vient fréquemment compliquer d'autres processus morbides, se développant à côté des microbes spéciaux et ajoutant à leur action celle des principes toxiques qu'il produit, ou exaltant même leur virulence.

On le trouve fréquemment dans des plaies, dans des cas de suppurations putrides, à la surface des muqueuses altérées; il reste fréquemment dans la lésion locale, laissant passer dans le sang les espèces pathogènes avec lesquelles il se trouve en association.

D'autres fois, il est seul et réellement pathogène. Les lésions produites ne sont pas spécifiques; comme le *Colibacille*, le *Pneumobacille*, il peut engendrer des lésions très différentes. On l'a vu causer des entérites, des péritonites, des pleurésies (2), des méningites (3), de l'ictère grave.

Wyss (4) le donne comme pouvant déterminer une sorte de septicémie très meurtrière chez les poissons.

De Nittis (5) est parvenu à vacciner des cobayes en se servant d'inoculations de cultures vivantes. Le sérum de ces cobayes protège le lapin contre une inoculation virulente tuant le témoin en vingt-quatre heures.

BACILLUS MIRABILIS Hauser.

(*Proteus mirabilis*).

Il se rencontre avec le précédent et dans les mêmes conditions, mais plus rarement que lui. Les différences qui séparent ces deux espèces sont peu importantes.

(1) Lannelongue et Achard, *Soc. de biol.*, 1896, p. 533. — Pfaundler, Eine neue Form der Serumreaktion auf Coli und Proteusbacilloren (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, 1898, p. 9, 71 et 131).

(2) Charrin, Pleurésie à *Proteus* (*Soc. de Biol.*, 15 juin 1895).

(3) Lannelongue et Achard, Sur les infections provoquées par les Bacilles du groupe *Proteus* et sur les propriétés agglutinantes du sérum dans ces infections (*C. R. des séances de l'Acad. des sc.*, 5 octobre 1896).

(4) Wyss, Ueber eine Fischseuche durch Proteus (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVII, 1898, p. 143).

(5) De Nittis, Sérothérapie du *Proteus vulgaris* (*Soc. de Biol.*, 13 juin 1896).

Les bâtonnets du *Bacillus mirabilis* ont 0,6 μ de largeur. Leur longueur est variable; elle excède parfois très peu la largeur; les articles paraissent alors presque ronds; elle atteint souvent de 2 à 3 μ. Ils sont mobiles et montrent de grosses formes d'involution dont le diamètre peut atteindre 7 μ. Dans diverses cultures, on peut trouver des filaments très longs.

Les colonies des cultures sur plaques ressemblent beaucoup à celles de l'espèce précédente; le centre en est plus brunâtre, les prolongements moins mobiles. Beaucoup de ces derniers sont plus minces, tordus en hélice, rappelant les formes décrites par Klebs sous le nom de *Helicomonas.*

En piqûre sur gélatine, il se forme à la surface, en quarante-huit heures, un disque grisâtre brillant. Puis la liquéfaction se fait rapidement. Sans oxygène, la croissance a lieu, mais lentement; la gelée n'est pas liquéfiée, même après longtemps.

Les effets sont les mêmes que ceux que produit le *Bacillus vulgaris.*

J'ai rencontré plusieurs fois cette espèce dans l'eau.

BACILLUS ZENKERI Hauser.

(*Proteus Zenkeri.*)

Ce sont des bâtonnets ayant en moyenne 0,4 μ de large et 1,65 μ de long, assez mobiles.

Sur plaques de gélatine, ils donnent de petites colonies aplaties, d'un gris blanchâtre. En piqûre, la culture se termine en terrasse; de la périphérie partent des filaments renflés, de distance en distance, en petits îlots formés de bâtonnets régulièrement accolés les uns aux autres, dont on peut très bien apercevoir la disposition en faisant des préparations par impression. La gélatine n'est pas liquéfiée. Ces cultures sont inodores.

Les cultures dans le bouillon ont une forte odeur putride. Elles ne donnent pas la réaction de l'indol.

Cette espèce est plus exigeante en oxygène que les deux premières; elle croît à peine dans l'acide carbonique.

Les effets qu'elle occasionne semblent être analogues à ceux des espèces précédentes.

BACILLUS FIGURANS Crookshank (1).

C'est une espèce commune dans l'air, qui vient fréquemment contaminer les cultures sur plaques, surtout lorsque la gélatine commence à se dessécher. Elle y forme de petits îlots blanchâtres, opalescents, de forme et de grandeur très diverses, reliés entre eux par de fins prolongements droits ou élégamment courbés. Les Bacilles affectent dans ces cultures une disposition très régulière, qu'on peut parfaitement étudier dans les préparations par impression.

La culture se fait sur gélatine sans la liquéfier; il s'en échappe en tous sens des filaments qui parcourent la gelée.

(1) Crookshank, Manuel pratique de bactériologie, p. 199.

L'inoculation sur gélose, en strie, donne une culture dont l'aspect rappelle une plume. De la ligne médiane, assez épaisse, partent une série de tractus filamenteux, placés comme les barbes de la plume.

BACILLUS TERMO Dujardin.

(*Bacterium termo.*)

Il est bien certain que la dénomination de *Bacterium termo*, telle que la comprenaient les anciens auteurs, ne s'appliquait pas à une seule espèce bien définie, mais pouvait convenir à plusieurs autres dont certains caractères étaient voisins ou identiques. C'était, pour Dujardin (1), des bâtonnets cylindriques, un peu renflés au milieu, souvent mesurant de 2 à 3 μ en longueur et de 0,6 à 1,8 μ en largeur. Espèce des plus communes des putréfactions animales ou végétales, elle y apparaît des premières, mais disparaît assez vite, cédant la place à d'autres plus actives, au moment où l'odeur de putréfaction devient intense. Aérobie vrai, elle se répand d'abord dans toute la masse liquide, puis abandonne les parties profondes au fur et à mesure que l'oxygène est consommé, et se concentre à la partie superficielle où elle forme un voile. Les *Bacillus fluorescens liquefaciens* et *Bacillus fluorescens putridus* faisaient partie sans aucun doute de l'ancien type de Dujardin ; il en est de même des deux espèces étudiées par Hauser (2) sous les noms de *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis*. Mais il existe une autre Bactérie, répandue partout, très commune dans l'eau et les macérations, spécifiquement distincte des précédentes, à laquelle on peut réserver le nom de Dujardin, en la faisant rentrer dans le genre *Bacillus* avec les limites que nous lui avons assignées. C'est à elle que s'applique la description suivante.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Ce sont des bâtonnets trapus, mesurant en moyenne 1,4 μ de longueur sur 0,7 μ de largeur. Réunis par deux d'ordinaire, ils ne se séparent que par un étranglement médian peu prononcé ; il peut aussi se former des chaînes à plusieurs articles. Les mouvements sont vifs ; Dallinger et Drysdale (3) ont décrit des cils vibratiles chez une petite espèce qu'ils rapprochent du *Bacterium termo*.

Cultures. — Cultures sur plaques de gélatine. — Les colonies sont assez caractéristiques. Il se forme, en deux jours, une petite colonie blanchâtre dont la périphérie devient grisâtre, trouble et s'entoure d'une zone de liquéfaction. En trois ou quatre jours, celles qui arrivent à la surface prennent l'aspect représenté figure 309. C'est une tache circulaire blanche, un peu grise, à centre opaque, floconneux, entourée d'un liquide légèrement trouble, atteignant de 2 à 4 millimètres de diamètre. A la périphérie s'observe une bordure pâle, tout à fait transparente, très sinueuse, parfois lobée, faisant ressembler

(1) Dujardin, Histoire naturelle des Zoophytes. Infusoires. Paris. Roret, 1841.
(2) Hauser, Ueber Fäulniss-Bacterien. Leipzig, 1885.
(3) Dallinger et Drysdale, On the existence of Flagella in Bacterium termo (*The Monthly microscopical Journal*, 1875).

la Bactérie à une Amibe ayant englobé un gros corps sphérique. Cette bordure présente des mouvements lents vers 20°, quand la gélatine devient un peu visqueuse; en l'examinant attentivement, pendant longtemps, on s'aperçoit que les lobes changent de forme. Elle disparaît dès que la liquéfaction marche rapidement. Ces colonies peuvent atteindre 1 centimètre et plus de diamètre; elles forment dans la gelée une profonde cupule remplie d'un liquide un peu trouble. La gelée ambiante prend, quelquefois seulement, une teinte verdâtre rappelant celle du *Bacillus fluorescens liquefaciens*, qui se distingue aisément parce que, dans les mêmes conditions, ses colonies ont un centre formé de masses floconneuses disposées côte à côte, en anneau, et manquent de la bordure spéciale.

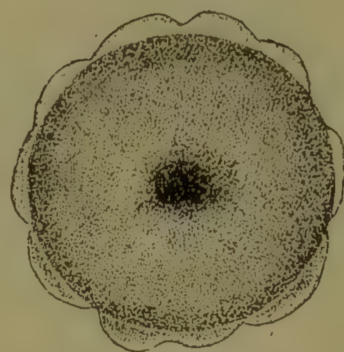


Fig. 309. — Culture de *Bacillus termo* sur plaques de gélatine (d'après une photographie). 50/1.

Cultures dans la gélatine. — En piqûre, dans un tube de gélatine, il se forme en douze heures une petite cupule de liquéfaction remplie d'un liquide presque clair (fig. 310); en deux jours la cupule a atteint



Fig. 310. — Culture de *Bacillus termo* dans la gélatine. Agée de douze heures.



Fig. 311. — Culture de *Bacillus termo* dans la gélatine. Agée de deux jours.



Fig. 312. — Culture de *Bacillus termo* dans la gélatine. Culture plus âgée.

les parois du tube (fig. 311). Les couches supérieures de la gelée prennent une teinte verdâtre. La gélatine du tube est liquéfiée rapidement dans la moitié de sa hauteur (fig. 312), puis très lentement jusqu'en bas; elle reste longtemps trouble et montre un dépôt blan-

châtre, formé de gros flocons denses. La culture ne développe qu'une faible odeur.

Cultures sur gélose. — Sur gélose, on observe une couche muqueuse, grisâtre, peu consistante, presque fluide. Le sérum sanguin est liquéfié. Sur pomme de terre, l'inoculation donne, en huit jours, une large culture grisâtre, glaireuse.

Cultures dans le bouillon. — Le bouillon se trouble d'abord uniformément ; il se recouvre d'un mince voile qui se brise facilement et donne un dépôt peu abondant au fond du vase. D'après Cohn, il se forme un voile léger, verdâtre, dans la solution minérale qui porte son nom.

BACILLUS SUBTILIS Ehrenberg.

Atlas de microbiologie, pl. XLV.

Le *Bacillus subtilis* est une espèce des plus répandues ; ses spores abondent d'ordinaire dans l'air, la poussière, l'eau, les couches supérieures du sol. On le rencontre toujours sur les plantes fraîches ou sèches, le foin par exemple, d'où son nom vulgaire de *Bacille du foin* (Heubacillus). Il est naturellement absorbé par les herbivores ; les spores traversent l'intestin, résistant au suc gastrique qui tue les bâtonnets, et se retrouvent en grand nombre dans les excréments. Il doit certainement exister, vivant dans les mêmes conditions, plusieurs espèces à caractères très voisins qu'une étude très attentive peut seule faire différencier ; c'est très probablement la raison des divergences que l'on remarque dans les descriptions.



Fig. 313. — *Bacillus subtilis*. Bâtonnet isolé avec cils. — Chaîne de bâtonnets. — Spores dans un filament. — Spores libres. — Spore germant. 1200/1.

L'espèce qui semble être le vrai *Bacillus subtilis* s'obtient en faisant bouillir, pendant un quart d'heure à une demi-heure, une macération de foin neutralisée d'avance. Les spores de cette Bactérie résistent assez longtemps à la température de 100° qui tue d'ordinaire les autres mélangées avec elles. Les spores des *Bacilles de la pomme de terre* cependant résistent aussi bien ; aussi obtient-on souvent des cultures de ces espèces aux lieu et place de *Bacillus subtilis*. Il se forme, après un jour ou deux à 30°, à la surface de l'infusion, un voile caractéristique.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les cellules sont des bâtonnets cylindriques, à extrémités légèrement arrondies, mesurant de 4 à 5,5 μ de long sur 0,7 à 0,8 μ de large. Ils sont tantôt isolés, tantôt réunis en chaînes plus ou moins longues ; à la surface des liquides, ils forment par leur accolement des voiles épais. Les Bacilles en suspension dans un liquide présentent des mouvements très vifs. Les organes du mouvement sont de longs cils, que Koch a découverts aux deux extrémités

des bâtonnets en les colorant à l'aide d'une solution d'extrait de bois de Campêche (fig. 313). Les méthodes de coloration des cils actuelles montrent de longs flagella, répartis, au nombre de dix à douze, sur toute la périphérie des éléments ; ils sont surtout bien visibles sur les bâtonnets isolés. Les chaînes sont mobiles comme les bâtonnets isolés, mais ont un mouvement plus lent et plus onduleux ; les seuls bâtonnets qui occupent les bouts de la chaîne sont munis d'un cil à leur extrémité libre ; lorsqu'une chaîne vient à se rompre, les articles qui terminent chaque partie gagnent leur cil en peu de temps. La division des bâtonnets se fait rapidement et peut s'observer aisément dans une culture sur porte-objet. Le temps qu'elle demande pour s'opérer est une fonction directe de température ; à 21°, un bâtonnet, issu d'une division, demande cinq quarts d'heure pour se partager à son tour ; à 35°, il suffit de vingt minutes.

Des spores se forment très vite dans les bâtonnets ; on en trouve en grand nombre dans les cultures après quelques jours. L'article qui va sporuler devient immobile et montre une tache sombre en son milieu, parfois en un point plus rapproché d'une extrémité. Cette tache grandit, devient ovoïde et gagne des contours sombres. Elle forme une spore d'habitude elliptique, parfois en court cylindre ou presque régulièrement sphérique, à membrane épaisse, à reflet bleuâtre (fig. 313). Lorsque la spore est formée, les bâtonnets peuvent redevenir mobiles, puis leur membrane se dissocie et les spores sont mises en liberté. Elles tombent au fond du vase, si le milieu est liquide, et ont besoin pour germer d'être portées dans un milieu nouveau. Leur longueur est en moyenne 1,2 μ et leur largeur 0,6 μ, un peu inférieure à celle du bâtonnet ; elles sont souvent entourées d'un anneau de protoplasma grisâtre, résidu du contenu de la cellule mère.

La germination peut se faire en douze heures à la température ordinaire. D'après Büchner (1), elle est hâtée si l'on fait bouillir au préalable les spores dans l'eau pendant cinq minutes et qu'on laisse refroidir lentement ; on la voit alors commencer après deux ou trois heures. La spore pâlit un peu, puis la membrane semble se fendre suivant son petit diamètre ; c'est à cette place que sort le jeune bâtonnet, auquel restent souvent accolées les deux valves de la membrane. La direction de ces jeunes cellules est par conséquent perpendiculaire à celle des cellules mères. La coloration s'obtient très facilement par les méthodes ordinaires ; ce microbe *reste coloré* par la méthode de Gram.

Cultures. — Ce *Bacillus subtilis* est un aérobie vrai ; il ne croît absolument pas en l'absence d'oxygène. Lorsqu'on le prive de ce gaz, les cellules végétatives deviennent immobiles et meurent en peu de temps ; les spores résistent, mais ne peuvent germer qu'à la condition d'avoir de l'oxygène à leur disposition. Il est très avide d'oxygène ; développé en voile à la surface d'un liquide, il l'absorbe si complètement qu'il est possible de cultiver dans les couches inférieures du liquide, resté clair, des anaérobies vrais. Les spores sont très résistantes ; elles ne sont tuées qu'après une longue exposition à 100° et beaucoup de solutions antiseptiques habituelles ne les atteignent pas.

(1) Büchner, Ueber ein experimentelle Erzeugung des Milzbrandcontagium aus den Heupilze (*Naegeli's Untersuchungen ueber niederen Pilze*, 1882).

Les cultures s'obtiennent très facilement sur les milieux nutritifs ordinaires.

Cultures sur plaques de gélatine. — Ce Bacille y donne, en vingt-quatre heures, de petites colonies rondes, jaunâtres, discoïdes, qui, arrivant à la surface de la gelée, s'y étalent en petites taches transparentes à bords sinueux, à centre jaunâtre ; les bords pénètrent rapidement dans la gélatine ambiante sous forme de fins tractus filamenteux qui donnent l'aspect cilié à la colonie. Le centre se déprime peu à peu et, vers le quatrième jour, commence à se liquéfier. La liquéfaction progresse; au cinquième ou au sixième jour, on observe un creux assez prononcé qui présente au centre un amas circulaire blanc jaunâtre, restant de la colonie profonde, et tout autour, tapissant la cavité, de petits flocons formés de fins filaments pelotonnés, parfois ondulés ; de nombreux prolongements radiaires fins s'observent à la périphérie. Ces colonies peuvent atteindre près de 1 centimètre de diamètre. Toute la plaque est alors bientôt liquéfiée ; dans le liquide un peu trouble nagent de nombreux flocons semblables à ceux des colonies. Les colonies profondes, qui restent dans les couches inférieures de gelée, liquéfient sans passer par la première phase ; elles se trouvent alors au fond d'un creux profond, à bords taillés à pic, semblant fait à l'emporte-pièce, le liquide produit s'évaporant en partie.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* sur gélatine, il se forme à la surface et dans le canal une mince culture blanchâtre qui liquéfie progressivement la gelée. Le liquide, d'abord trouble, s'éclaircit lentement ; il se forme, au fond du vase, un dépôt abondant et, à la surface du liquide, une pellicule blanche assez épaisse.

Cultures sur gélose. — Il se développe sur gélose en une couche blanche laiteuse, se transformant en une membrane ridée, un peu transparente.

Cultures sur pomme de terre. — Le développement y est très rapide ; on y observe, en quarante-huit heures, à 37°, une couche épaisse, crémeuse, d'un blanc un peu jaunâtre.

Cultures sur le bouillon. — Le bouillon se trouble dès le premier jour. Au second jour, il s'est formé à la surface un voile mince, blanc, sec, qui se ride au quatrième et donne ensuite une membrane assez épaisse, fortement plissée, à surface supérieure sèche, comme poudreuse. Ce voile est cohérent, se brise difficilement et s'accole fortement aux parois du vase. Le liquide sous-jacent est limpide ; il existe dans le fond du vase un léger dépôt blanc, formé entièrement de spores.

Propriétés biologiques.

Les cultures n'ont aucune odeur.

Cette espèce ne semble avoir aucune action pathogène. On peut en introduire des doses considérables dans l'organisme sans occasionner d'accidents. Wyssokowitsch (1) a observé que les spores, injectées dans les veines, se fixaient dans le foie et la rate où l'on pouvait les retrouver longtemps après, plusieurs mois, en état de germer, sans

(1) Wyssokowitsch, Ueber die Schicksale der in's Blute injicirten Mikroorganismen (*Zeitschr. für Hygiene*, I, p. 3, 1886).

que ces organes parussent souffrir de leur présence. Cette innocuité absolue est une preuve certaine de la non-identité du *Bacillus subtilis* avec le *Bacillus anthracis*. L'identité des deux espèces a été en effet soutenue par Büchner, qui avait été conduit à cette opinion par des méthodes d'expérimentation défectueuses et de graves erreurs d'observation.

Le *Bacillus subtilis* ne paraît agir en aucun cas comme ferment. Vandevelde (1) a annoncé qu'en le privant en partie d'oxygène on pouvait l'amener à produire une fermentation. En soumettant à une analyse minutieuse un milieu de composition bien connue où cette Bactérie avait végété pendant un temps suffisant, il a remarqué que de la glycérine et du sucre avaient été consommés et qu'on trouvait par contre dans le liquide de l'acide lactique, des traces d'acides gras, de l'acide carbonique et de l'hydrogène. Mais ces dernières substances ne se trouvaient qu'en très faibles proportions, provenant sans aucun doute des phénomènes chimiques de l'assimilation. D'ailleurs, la pureté absolue des cultures est loin d'avoir été assurée, et la détermination exacte de la Bactérie étudiée n'a pas été faite.

Habitat.

C'est une espèce très répandue dans la nature; elle abonde dans le sol, l'air, les eaux. Aussi l'isolait-on fréquemment de bien des milieux.

C'est en majeure partie à cette espèce qu'il faut rapporter les soi-disant *Bacilles du jéquirity*, se développant dans les macérations de graines de jéquirity, auxquels certains auteurs ont attribué l'action irritante de ces macérations, utilisées dans la thérapeutique oculaire. Il est amplement prouvé aujourd'hui que la substance active est une toxalbumine qui se trouve dans les graines ; les Bactéries qui s'observent dans le liquide proviennent uniquement de germes apportés par l'air et n'ont à revendiquer aucune part dans l'effet produit.

BACILLUS MESENTERICUS VULGATUS Flugge.

(*Bacille commun de la pomme de terre, Kartoffelbacillus de Koch.*)

Atlas de microbiologie, pl. XLV.

C'est une Bactérie extrêmement répandue (2). Elle existe abondamment dans l'air et vient fréquemment contaminer les milieux de culture qui ne sont pas mis complètement à l'abri ; elle est fréquente dans la terre des couches supérieures du sol, dans les excréments de l'homme ou des animaux, fréquente aussi sur les plantes, en particulier sur les épluchures de pomme de terre. On l'obtient souvent sur les pommes de terre incomplètement stérilisées auxquelles on avait conservé la pelure. C'est de là que lui vient le nom qui lui a été attribué par Koch. Les spores qui se trouvent à la surface ou dans les

(1) Vandevelde, Studien zur Chemie des Bacillus subtilis (*Zeitschr. für physiol. Chemie*, VIII, 1884).

(2) Vignal, Contributions à l'étude des Bactériacées. Le *Bacillus mesentericus vulgatus*. Paris, G. Masson, 1889.

couches externes de cette enveloppe peuvent résister longtemps à 100° et même à des températures supérieures. On en observe alors en peu de temps le développement qui se fait toujours de la même façon et est facilement reconnaissable. La croissance commence par la périphérie de la surface de section ; elle donne une bordure gris jaunâtre, festonnée, mate ; d'abord lisse, puis ridée, frisée, elle s'étend rapidement et recouvre en quelques jours toute la tranche. La pellicule formée est assez résistante, très visqueuse ; lorsqu'on en enlève un morceau avec le fil de platine, elle s'étire en longs filaments. Il apparaît fréquemment à la surface des gouttelettes transparentes, un peu jaunâtres, très visqueuses.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les éléments sont des bâtonnets cylindriques, à extrémités presque carrées, dont la longueur varie suivant le milieu de culture. Sur les milieux solides, ils ont en moyenne 1,2 μ ; sur les milieux liquides, ils atteignent 3 μ et 4 μ de long ; dans le lait, il se produit même de longs filaments. La largeur est constante, de 0,9 μ environ. Ces Bacilles sont rarement isolés, plus souvent réunis par deux, parfois en grand nombre en chaînes, agglutinés par de la matière visqueuse très cohérente. Ils sont immobiles ou animés d'un mouvement d'oscillation lente. Les bâtonnets peuvent produire des spores rondes, de même diamètre qu'eux, se trouvant la plupart du temps au milieu de l'article. Ces spores, entre autres qualités, offrent une très grande résistance à la chaleur ; une ébullition prolongée les respecte souvent.

Cultures. — Il se cultive très facilement sur tous les milieux ordinaires.

Cultures sur plaques de gélatine. — En culture sur plaques, cette espèce donne en vingt-quatre heures de petites colonies jaunâtres, qui se montrent, à un grossissement moyen, formées d'une partie centrale plus sombre et d'un anneau périphérique plus clair, jaunâtre. En deux jours la colonie a grandi ; son centre, toujours plus sombre, s'est entouré d'une zone claire où commence la liquéfaction de la gélatine (fig. 314). De la périphérie partent de nombreux filaments radiaires, courts, donnant aux bords l'apparence ciliée. Au delà de la zone de filaments, on aperçoit un anneau sombre, qui est formé par la liquéfaction de la gélatine et l'enfoncement de la colonie. La liquéfaction progresse, ces particularités disparaissent, la colonie peut atteindre 1 centimètre de diamètre ; c'est une cupule circulaire, remplie d'un liquide grisâtre. En trois ou quatre jours, toute la plaque est liquéfiée.

Fig. 314. — Jeune colonie de *Bacillus mesentericus vulgatus*, sur plaques de gélatine. 58/1.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre*, la gélatine est très vite liquéfiée. En quarante-huit heures, on peut déjà observer une cupule bien développée. Peu après, la partie supérieure du tube est entièrement liquide. Le liquide est blanchâtre et tient en suspension des flocons

plus denses. Au quatrième jour, la liquéfaction a atteint le fond de la piqûre.

Cultures sur gélose. — On obtient une pellicule grise, parfois un peu jaune, mate, d'apparence cireuse ; d'abord lisse, elle se ride plus tard. Cette culture est très adhérente à la gelée et ne s'en sépare que difficilement.

Cultures sur sérum. — Il se forme une membrane blanche qui se plisse aussi. Le milieu est rapidement liquéfié.

Cultures sur pomme de terre. — L'inoculation sur pomme de terre donne une pellicule grisâtre, épaisse, festonnée, envahissant rapidement la surface libre du milieu, laissant souvent perler de petites gouttelettes d'eau. La culture pénètre dans la substance du tubercule ; on en enlève de petites parcelles avec les filaments visqueux caractéristiques. L'amidon de la pomme de terre est rapidement transformé en glucose.

Cultures dans le bouillon. — Il se produit en moins d'un jour un léger trouble ; le liquide se recouvre d'un voile parfois très léger, incomplet, ressemblant à une fine dentelle, à mailles larges, ou d'une membrane plus épaisse, plissée, souvent aréolée. Le bouillon s'éclaircit ; sa coloration peut foncer et devenir brune. La membrane tombe plus tard au fond du ballon et se désagrège lentement.

Cultures dans le lait. — Le lait subit des modifications importantes sous son influence. La caséine se coagule en peu de temps, puis se liquéfie partiellement ; la plus grande partie reste inattaquée. Le liquide est alors séparé en trois couches. La couche médiane est un liquide incolore ou faiblement jaunâtre, fortement alcalin, présentant les réactions des peptones ; il n'est ni visqueux ni filant. La couche supérieure est formée de crème envahie par les Bacilles et devenue très filante, ainsi que le dépôt inférieur, formé de la caséine qui n'a pas été dissoute. Il se forme toujours des traces d'acide lactique. Cette Bactérie paraît pourtant occasionner à elle seule une transformation visqueuse spontanée du lait qui change toute la masse en un liquide épais, très filant, ressemblant à une forte solution de gomme arabique.

Propriétés biologiques.

Les matières amylacées sont énergiquement attaquées : il se produit une diastase très active. Il ne peut toutefois pas se développer dans les milieux qui ne contiennent que des hydrates de carbone ; il lui faut des matières albuminoïdes pour végéter. Il dissout assez rapidement l'albumine de l'œuf, en dégageant une odeur ammoniacale ; on ne trouve jamais d'indol. D'après Loeffler, l'acide lactique serait transformé en acide butyrique.

BACILLUS MESENTERICUS FUSCUS Flugge.

(Bacille brun de la pomme de terre.)

On le trouve très communément avec le précédent, ou seul dans les mêmes conditions. Il s'en distingue facilement par les caractères de ses cultures et surtout par la coloration brunâtre de certaines d'entre elles.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Ce sont de petits Bacilles courts, de mêmes dimensions que l'espèce congénère, réunis le plus souvent par deux, ou en petit nombre en courtes chaînes. Ils sont bien mobiles et donnent aussi des spores sphériques.

Cultures sur plaques de gélatine. — En cultures sur plaques, ils forment de petites colonies jaunâtres, granuleuses, qui liquéfient très vite la gélatine, en émettant à leur périphérie de fins prolongements radiés, plutôt ondulés que droits.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre*, la gélatine est en partie liquéfiée en trois ou quatre jours ; le liquide trouble renferme d'assez gros flocons d'un blanc sale.

Cultures sur gélose. — On obtient une couche d'un brun très clair, café au lait, d'abord assez homogène et résistante, puis visqueuse, presque coulante.

Cultures sur pomme de terre. — La culture sur pomme de terre est plus spéciale. C'est en vingt-quatre heures une peau lisse, jaunâtre, qui brunit vite, devient sèche et ridée. Cette membrane est relativement mince et ne pénètre pas dans la substance du tubercule.

Cultures dans le bouillon. — Elles sont semblables à celles que donne l'espèce précédente.

BACILLUS MESENTERICUS RUBER.

(*Bacille rouge de la pomme de terre* Globig) (1).

Atlas de microbiologie, pl. XLVI.

C'est une espèce qui se développe assez fréquemment sur les pommes de terre mal stérilisées, comme les précédentes. Elle y forme une culture d'un blanc rosé, à contours sinueux ; de consistance molle au début, cette culture prend une apparence membraneuse, puis se plisse, comme celle du *Bacillus mesentericus fuscus*.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les bâtonnets mesurent environ 2,2 μ de long sur 0,8 μ d'épaisseur ; ils sont peu mobiles, rarement isolés, mais plutôt unis par trois ou quatre bout à bout. Ils produisent très facilement des spores ovoïdes plus larges qu'eux.

Ces spores sont très résistantes aux agents de destruction (2). Le sublimé à 1 p. 100 ne les tue qu'après un séjour de quatre-vingt-dix minutes. Les spores jeunes sont tuées par un séjour de quatre heures et demie dans la vapeur d'eau à 100° ; les spores vieilles de trois à quatre mois résistent plus longtemps et ne sont tuées qu'après cinq heures au moins. A l'autoclave, ces spores sont mortes au bout de dix minutes

(1) Globig, Ueber einen Kartoffel-Bacillus mit ungevöhnlich widerstandfähigen Sporen (*Zeitschr. für Hygiene*, III, 1888, p. 322).

(2) Legrain, Sur le Bacille rouge de Globig (*Rev. méd. de l'Est*, 1888, p. 595).

à 123°, de deux minutes à 127°, et périssent instantanément à 130 degrés.

Cultures. — Cultures sur plaques de gélatine. — Les colonies sont visibles au bout de quarante-huit heures, sous forme de petites taches circulaires, granuleuses, dont le centre présente une légère teinte jaunâtre, tandis que la périphérie reste transparente. A la fin du troisième jour, les bords des colonies perdent de leur netteté, il en part de petites houppes qui divergent en tous sens et se montrent, à un faible grossissement, formées de filaments brisés dont les articles sont réunis à angle droit ou obtus. Elles ont souvent alors l'apparence d'un oursin, parfois celle d'un réseau. La liquéfaction commence après le cinquième jour ; une auréole de fluidification se montre entre le centre de la colonie, qui présente un aspect plus foncé, et la couronne que forment les filaments radiaires. D'autres fois, il n'y a pas de tache centrale, c'est un cercle clair avec une auréole de courts filaments radiés. Au bout de huit jours, toute la plaque est liquéfiée.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre*, la liquéfaction commence vers le quatrième jour ; il se fait un entonnoir de liquéfaction qui gagne peu à peu en profondeur et atteint, vers le sixième jour, les parois du tube. Le liquide est troublé par des flocons grisâtres qui tombent peu à peu en formant un dépôt nuageux ; à sa surface, flotte une pellicule homogène blanchâtre.

Cultures sur gélose. — A 35°, le développement est très rapide. En seize heures, toute la surface libre est recouverte d'une culture d'un blanc sale légèrement rosé. Puis la culture se plisse et devient plus franchement rosée. Cette colonie n'adhère pas du tout à la gelée.

Cultures sur pomme de terre. — La surface, ensemencée par plusieurs stries, se recouvre, en vingt-quatre heures, d'une culture d'un blanc rose, à contours sinueux. Cette culture se dessèche un peu, devient presque membraneuse, puis se plisse. Sur de très vieilles cultures, la teinte est devenue d'un gris rougeâtre sale, la surface est fortement plissée. Ces vieilles cultures dégagent une odeur intense de jambon cuit, qui disparaît assez vite dans les cultures successives.

La matière colorante est insoluble dans l'alcool et dans l'éther.

Cultures dans le bouillon. — Dans le bouillon, à l'étuve, cette Bactérie forme en douze heures un voile assez épais ; le liquide ne se trouble pas, mais brunit.

Cette espèce n'a aucune action pathogène sur les animaux d'expérience, même à très fortes doses.

Elle est très commune dans l'air ou dans l'eau et contamine souvent les milieux de culture grâce à la résistance de ses spores à la chaleur.

BACILLUS MEGATERIUM de Bary.

Atlas de microbiologie, pl. XLIV.

De Bary (1) l'a rencontré sur des choux cuits qui avaient été exposés à l'air ; il a été retrouvé depuis dans divers liquides de macération, dans l'eau, parmi des Algues putréfiées, dans l'air, la terre.

(1) De Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bacterien, p. 499. Leipzig, 1884.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Ce sont des bâtonnets cylindriques, à extrémités arrondies, mesurant 2,5 μ de large. Dans les milieux nutritifs nouveaux, la longueur peut atteindre de 10 à 11 μ ; ce sont de larges articles droits ou légèrement courbés qui se multiplient par bipartition (fig. 315, *1*). Ils ont des mouvements constants assez lents, et sont

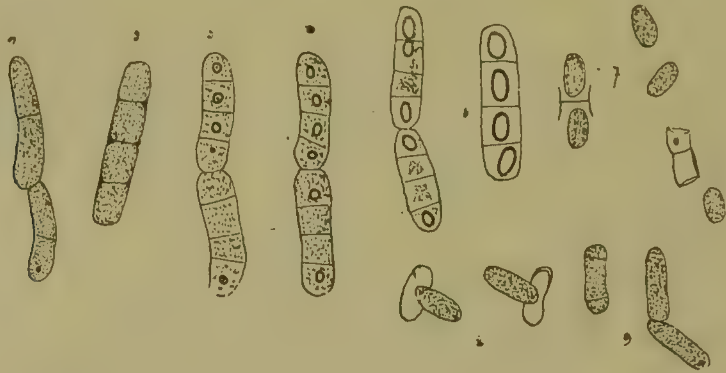


Fig. 315. — *Bacillus megalerium.*
1, cellules végétatives mobiles ; 2, 3, 4, 5, 6, division en articles et formation des spores ; 7, spores libres ; 8, 9, germination des spores (d'après De Bary). 600/1.

isolés, réunis par deux, en petit nombre ou en longues chaînes. Dans ce cas, ils ne sont pas accolés en droite ligne, exactement les uns contre les autres, mais se touchent un peu latéralement, comme les deux articles du numéro 1 de la figure. Ces bâtonnets âgés paraissent simples ; cependant, lorsqu'on les traite par un réactif qui les contracte, l'alcool ou la teinture d'iode, par exemple, ils se montrent, à certains moments, formés de quatre à six articles à peine plus longs que larges (fig. 315, *2*, *3*, *4*, *5*, *6*). Dans chacun de ces articles peut se produire une spore. A un moment donné, il apparaît dans le protoplasma une tache claire ronde (fig. 315, *3*, *4*) qui s'agrandit, devient ovale, prend des contours sombres et se transforme, en quelques heures, en une spore ovale, allongée, parfois un peu cylindrique, très réfringente, d'éclat bleuâtre, presque aussi longue que la cellule mère, mais bien moins large ; sa largeur ne dépasse guère le tiers de celle du bâtonnet (fig. 315, *5*, *6*). Pendant la formation des spores, le mouvement des cellules diminue, mais ne cesse jamais complètement. La spore est mise en liberté par résorption de la membrane de la cellule mère. On peut facilement suivre sa germination, qui se fait en quelques heures, lorsqu'on a eu soin de dessécher pendant vingt-quatre heures un produit de culture contenant des spores mûres. La spore perd son contour sombre et prend l'aspect pâle d'une cellule végétative, puis se gonfle jusqu'à ce qu'elle ait atteint les dimensions ordinaires des bâtonnets. Parfois il semble que la membrane externe de la spore se rompt pour laisser sortir le jeune bâtonnet ; elle peut même rester accolée à lui pendant un certain temps (fig. 315, *8*, *9*). Les jeunes bâtonnets grandissent et se divisent en peu de temps.

Cultures. — Il se cultive facilement sur les milieux ordinaires ; la température la plus favorable paraît être de 20°. C'est un anaérobie strict.

Cultures sur plaques de gélatine. — Les colonies sont rondes, grisâtres, finement granuleuses ; elles ont un centre jaunâtre d'où partent de nombreux tractus radiaires. Ces tractus se fondent lentement dans la gelée ambiante qui se liquéfie.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre*, la colonie se développe rapidement à la surface et liquéfie lentement la gélatine en entonnoir. Il se forme à la surface une pellicule grisâtre, épaisse ; le liquide sous-jacent est clair.

Cultures sur gélose. — Il s'y développe une culture blanche ; la gelée ambiante se teint souvent en brun.

Cultures sur pomme de terre. — Les cultures se développent très vite ; elles sont d'un blanc jaunâtre, caséeuses.

Cultures dans les bouillons. — Cette Bactérie se cultive dans les bouillons ou les solutions sucrées ; elle ne paraît produire aucun phénomène de fermentation. Elle ne forme pas d'indol, mais pourrait dégager de l'hydrogène sulfuré.

BACILLUS UREÆ Miquel.

Miquel (1) a obtenu, dès 1878, de l'eau d'égout, un Bacille qui détermine dans l'urine une modification en tout analogue à celle du *Micrococcus ureæ*, la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque. Pour l'isoler d'autres espèces qui l'accompagnent, en particulier de cette dernière, toujours présente dans ces conditions, il recommandait de chauffer l'eau d'égout pendant deux heures entre 80° et 90°. Le *Bacillus ureæ* résiste, les autres meurent. En ensemençant alors l'urine stérilisée avec quelques gouttes du liquide chauffé, on observe en très peu de temps son développement. Ce sont de minces bâtonnets, de moins de 1 μ de largeur, unis souvent en longs filaments, qui troublent très rapidement le milieu. La fermentation de l'urée est complète en quarante-huit heures. Le développement se ralentit ; beaucoup de bâtonnets forment des spores elliptiques, brillantes, qui supportent impunément pendant plusieurs heures une température de 96°. C'est un anaérobie facultatif ; il croît très bien sans oxygène libre, mais il vit aussi à l'air. Il ne peut se cultiver que dans les bouillons auxquels on a ajouté de l'urée.

Une Bactérie, voisine de celle-ci ou identique à elle, a été trouvée par Leube (2) dans l'urine putréfiée. Les éléments sont des bâtonnets de 1 μ de largeur et 2 μ de longueur, à extrémités arrondies, qui provoquent énergiquement le dédoublement de l'urée en carbonate d'ammoniaque. Les cultures s'obtiennent facilement sur la gélatine, qui n'est jamais liquéfiée. Sur plaques, ce sont de petits disques opalescents, pouvant atteindre un assez fort diamètre. En piqûre, le développement se fait presque exclusivement à la surface. Il s'y forme une couche blanche assez épaisse, à bords sinueux, pouvant montrer une série d'anneaux concentriques ; dans le canal, ce n'est qu'au bout de

(1) Miquel, Recherches sur le Bacillus ferment de l'urée (*Bull. de la Soc. chim.*, 1878, XXXI, p. 391, et 1879, XXXII, p. 126).

(2) Leube, Ueber die ammoniakalische Harngährung (*Virchow's Archiv*, C, p. 540).

longtemps qu'on aperçoit une mince culture grisâtre. Les cultures dégagent une odeur de propylamine.

Dans des recherches minutieuses, encore en cours de publication, Miquel (1) décrit un assez grand nombre de Bactéries, isolées de l'air, des eaux, du sol, qui peuvent déterminer la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque. Les unes sont des *Micrococcus*, comme le *Micrococcus ureæ* ; d'autres des Sarcines, la *Sarcina ureæ* par exemple ; le plus grand nombre sont des Bacilles. Pour ces derniers, il n'est pas possible d'accepter la dénomination d'*Urobacillus* qu'il propose, rien ne démontrant que le pouvoir de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque est leur principale propriété physiologique, et aucun caractère morphologique ne permettant de les séparer des autres *Bacilles*. Du reste, l'identification possible avec des espèces déjà décrites n'a malheureusement pas été recherchée et elle est au moins probable pour quelques-unes ; un assez grand nombre de saprophytes, nous l'avons vu, jouissent, dans une étendue limitée, du pouvoir de déterminer la fermentation ammoniacale de l'urée. Il peut cependant être commode de les grouper sous la rubrique d'*Urobactéries* qu'il leur applique.

Toutes ces *Urobactéries*, pour exercer leur fonction et manifester leur présence, doivent être mises dans des conditions convenables et cultivées dans des milieux contenant de l'urée. Ces milieux peuvent être l'urine stérilisée, les solutions d'urée plus ou moins additionnées de bouillons, de la gélatine ou de la gélose, à base d'urine ou contenant de l'urée. L'isolement des différentes espèces peut être fait dans ces milieux en se servant des méthodes habituelles.

Miquel a étudié, au point de vue spécial de l'hydratation de l'urée surtout, une série d'espèces de Bacilles dont les plus importants sont les espèces qu'il dénomme *Urobacillus Pasteurii*, *Urobacillus Duclauxii*, *Urobacillus Freudenreichii* et *Urobacillus Maddoxii*. Il est à désirer d'avoir, sur ces microbes, des détails morphologiques plus complets qui puissent permettre de les caractériser facilement.

Les deux premières espèces ne végètent dans le bouillon ou la gélatine ordinaires que lorsqu'on a fortement alcalinisé ces milieux.

L'*Urobacillus Freudenreichii* croît bien dans la gélatine vers 20° ; il forme à la surface une tache d'un blanc de lait, qui s'affaisse vers le huitième jour, pendant qu'il se produit au-dessous une cupule remplie d'un liquide trouble et visqueux. La liquéfaction de la gelée se poursuit lentement. Le liquide devient limpide avec le temps ; il s'est déposé une masse muqueuse blanche qui exhale une légère odeur de carbonate d'ammoniaque. Dans la gélatine additionnée d'urée, on observe, en quelques jours, autour des colonies blanches, une auréole de très fins cristaux. Cette même espèce croît bien dans le bouillon peptonisé et mieux dans l'urine naturelle ou artificielle, mais ne pullule plus à 37°, dans ces derniers milieux en occasionnant la réaction spéciale tandis que les deux premières le font très bien à 40°. Ce sont de gros bâtonnets mobiles, donnant des spores, réunis le plus souvent en longues chaînes.

L'*Urobacillus Maddoxii* rend l'urine filante et visqueuse. Il croît diffi-

(1) Miquel, Étude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée (*Ann. de micr.*, 1889 à 1896).

cilement sur gélatine, sans produire de liquéfaction. Il trouble rapidement le bouillon peptonisé additionné de 1 p. 1000 de carbonate d'ammoniaque. Dans la gélatine additionnée d'urée, il se forme également des cristaux autour des colonies. Les bâtonnets sont très gros, mobiles, et produisent des spores.

BACILLUS SULFHYDROGENUS Miquel.

Miquel (1) a rencontré en abondance dans les eaux d'égout, dans les eaux potables et dans les eaux pluviales, une Bactérie qui s'attaque à l'albumine insoluble, la détruit lentement et élimine la majeure partie de son soufre à l'état d'acide sulfhydrique libre. Les cellules sont de très courts bâtonnets mobiles larges à peine de 1 μ ; la longueur peut devenir plus grande dans les solutions très nutritives. C'est une espèce qui vit parfaitement en anaérobie. Cultivée dans un milieu dépourvu de soufre, elle dégage de l'acide carbonique et de l'hydrogène ; dès qu'on introduit du soufre, l'acide sulfhydrique apparaît. Une température de 30-55° favorise la production d'hydrogène sulfuré. En quarante-huit heures, 1 gramme de soufre est transformé dans une culture de 4 litres d'eau bouillie additionnée de tartrate d'ammoniaque et d'un excès de soufre. La production de ce composé sulfuré cesse lorsque sa quantité devient toxique pour la Bactérie : en le chassant par un courant d'acide carbonique, on peut prolonger la réaction. Lorsque le milieu est alcalin, il se produit un sulfure ; en semant dans une solution d'urée cette espèce et du *Micrococcus ureæ*, on obtient du sulfure ammonique. Avec le caoutchouc, on observe un long dégagement d'hydrogène sulfuré.

Dans tous les milieux où cet organisme trouve du soufre à l'état de liberté ou en combinaison avec des matières plastiques, il produit de l'hydrogène sulfuré. Par contre, il ne s'attaque jamais aux sulfates. On peut obtenir de l'hydrogène sulfuré en le mettant en présence de sels minéraux peu stables, comme les hyposulfites, mais seulement lorsque le milieu renferme un acide organique qui décompose l'hyposulfite et met du soufre en liberté.

Les Bactéries qui peuvent donner de l'hydrogène sulfuré, dans les mêmes conditions, sont très nombreuses (Voy. p. 262). Il suffit, pour s'en convaincre, de suspendre dans des vases de cultures des bandes de papier à l'acétate de plomb ; elles noircissent très souvent. En ajoutant aux cultures de la fleur de soufre lavée, le phénomène devient beaucoup plus sensible ; il se dégage souvent des flots d'hydrogène sulfuré. C'est encore une réaction qu'on ne peut, pas plus que la fermentation de l'urée, regarder comme bien spéciale. Il faut éviter de créer des espèces en se basant sur ce seul caractère.

C'est dans cet excès qu'est tombé Holschenikoff (2) en désignant sous le nom de *Proteus sulfureus* une espèce qui est certainement le *Proteus*

(1) Miquel, Sur la fermentation sulfhydrique (*Bull. de la Soc. chim.*, XXXII, p. 127). Et : Biogenèse de l'hydrogène sulfuré (*Ann. de micr.*, 1880).

(2) Holschenikoff, Sur la formation de l'hydrogène sulfuré par les Bactéries (*Ann. de micr.*, 1889).

vulgaris de Hauser, donnant dans ces conditions voulues de grandes quantités d'hydrogène sulfuré.

Rosenheim (1) a retiré d'une urine contenant, dès son émission, de fortes proportions d'acide sulfhydrique, des Bactéries ne liquéfiant pas la gélatine, qui végètent lentement dans l'urine fraîche en produisant le même composé sulfuré.

De nouvelles recherches sont nécessaires pour préciser la nature et l'action chimique intéressante de ces Bactéries.

BACILLES THERMOPHILES.

La découverte d'organismes pouvant vivre à des températures relativement élevée, 60° et plus, a dû forcément changer les idées en cours sur la résistance du protoplasma vivant à la chaleur et faire admettre que la vie était possible bien au-dessus de la limite fixée généralement entre 42 et 45 degrés.

On a trouvé des Algues diverses vivant dans des eaux thermales atteignant 70 et même 83 degrés.

On connaît un assez grand nombre d'espèces microbiennes végétant bien à ces hautes températures. On les désigne sous le nom général de *Bacilles thermophiles*. Ils ne présentent du reste aucun autre caractère général commun ; les espèces qui montrent ces curieuses propriétés physiologiques doivent être disséminées dans la classification bactériologique suivant leurs affinités appréciées à l'aide des caractères dont on se sert habituellement. La lumière n'est pas encore suffisamment faite à leur égard ; c'est la seule raison qu'on aie pour les maintenir groupées sous une telle dénomination.

Une très intéressante espèce a été isolée par Miquel (2). Elle se rencontre surtout dans les eaux de rivières et le sol, rarement dans l'air ; elle existe dans le contenu intestinal de l'homme et des animaux. C'est un microbe tout à fait inoffensif ; inoculé à fortes doses, il disparaît rapidement sans occasionner de troubles appréciables.

On l'obtient facilement en ensemençant, avec une goutte d'eau d'égout, des ballons de bouillon maintenus à 69° ; au bout de vingt-quatre heures, ces vases sont troubles et renferment presque tous cette espèce. En faisant alors avec le contenu de ces ballons une série de cultures dans des bouillons neufs maintenus à 71°, on arrive, après trois ou quatre passages, à obtenir des ballons qui ne se troublent pas si on les maintient à 40°, mais qui se troublent rapidement à 70 degrés.

La forme des éléments varie suivant les conditions de culture, surtout la température à laquelle l'espèce a végété. Les éléments ont une largeur de 1 μ environ. A 50°, les bâtonnets sont courts et présentent, à une extrémité, une spore ovale ; à 60°, les éléments s'allongent, les spores sont plus rares ; à 70°, les filaments sont longs et ont un aspect granuleux manifeste ; à 71-72°, cette Bactérie se présente en articles bosselés, granuleux, absolument dépourvus de spores.

(1) Rosenheim, *Soc. de méd. interne de Berlin*, 6 juin 1887.

(2) Miquel, Monographie d'un Bacille vivant au delà de 70° centigrades (*Ann. de micr.*, I, 1888).

Sur *gélatine*, la culture ne peut se faire qu'à une température où le milieu est liquéfié et a les caractères des cultures dans le bouillon.

Sur *gélose*, le microbe ne se développe qu'à partir de 42° ; il y forme, en quelques jours, une tache blanche, bombée. Les éléments de la colonie sont des Bacilles courts, munis de spores. On obtient de très belles cultures à 50°, 60° et 65° ; à 70°, le milieu se ramollit trop.

Jusqu'à 40°, le *bouillon* ne se trouble pas, même après un long temps. Les cultures, maintenues à 42°, se troublent au bout de trois ou quatre jours. A 50°, le trouble est très net en quarante-huit heures; à 60°, il est apparent dès le lendemain et s'accompagne de la formation de voiles légers, facilement dissociables. Entre 65° et 70°, le bouillon se trouble en douze heures; au-dessus, la végétation languit, puis ne se fait plus.

Rabinowitsch (1) a isolé de la terre, de la neige, du contenu de tout le canal intestinal de l'homme ou des animaux, mais surtout de l'intestin grêle, toute une série de *Bacilles thermophiles*, huit types, présentant cette curieuse propriété de végéter jusqu'à une température de 75° et présentant un optimum de végétation entre 60° et 70°. Ce sont toutes des espèces immobiles, formant des spores.

On les obtient facilement en ensemençant de grosses pommes de terre avec de la terre, ou les autres produits, et en laissant les cultures dans une étuve réglée vers 62°-63°. En un jour déjà, on peut trouver à la surface de petites colonies blanches, jaunes, brunâtres ou rougeâtres. On les reporte sur pomme de terre, sur gélose ou sur bouillon, dans les mêmes conditions, en évitant la dessiccation qui empêche le développement.

Elles végètent encore un peu vers 36°, presque plus à 33° et demandent alors un long temps pour donner quelques maigres colonies. Aux autres températures, elles végètent surtout bien en aérobies, mais croissent aussi en anaérobies, quoique beaucoup plus lentement. Voici les principaux caractères de ces espèces :

Bacillus thermophilus I. — Il forme sur pomme de terre des colonies blanches qui confluent souvent; sur gélose, des colonies granuleuses, à bords dentés. Les bâtonnets sont immobiles, souvent réunis en filaments et produisent des spores ovales terminales. La partie médiane devient acide.

Bacillus thermophilus II. — Il forme sur pomme de terre des colonies gris jaunâtre, à bords sinueux; sur gélose, des colonies verdâtres, moyennement granuleuses, proéminentes. Les bâtonnets immobiles sont un peu courbés et renferment des spores situées dans leur partie médiane. Le milieu a une réaction alcaline.

Bacillus thermophilus III. — Il forme sur pomme de terre des colonies brunes; sur gélose, de petites colonies blanchâtres, rondes, bien délimitées. Les bâtonnets immobiles sont assez épais et renferment une spore terminale. Le milieu devient acide.

Bacillus thermophilus IV. — Il forme sur pomme de terre des colonies rouges, aplaties; sur gélose, des colonies incolores, donnant de nombreux prolongements minces. Les bâtonnets immobiles forment sou-

(1) Lydia Rabinowitsch, Ueber die thermophilen Bakterien (*Zeitschr. für Hygiene*, 1895, XX, p. 154).

vent des filaments et contiennent une spore médiane sphérique. La réaction du milieu est faiblement alcaline.

Bacillus thermophilus V. — Il forme sur pomme de terre de très petites colonies proéminentes, d'un gris brunâtre; sur gélose, des colonies incolores à centre granuleux. Les bâtonnets immobiles ont des spores terminales ovales. Le milieu devient légèrement acide.

Bacillus thermophilus VI. — Il forme sur pomme de terre des colonies grises, aplaties, humides; sur gélose, des colonies d'un gris verdâtre, à centre granuleux et à bords transparents. Les bâtonnets ressemblent aux précédents. La réaction du milieu devient fortement alcaline.

Bacillus thermophilus VII. — Il forme sur pomme de terre des colonies blanc grisâtre; sur gélose, des colonies granuleuses à bords dentés. Les autres caractères sont semblables aux précédents.

Bacillus thermophilus VIII. — Il forme sur pomme de terre des colonies d'un gris brunâtre humide; sur gélose, des colonies granuleuses, tout à fait transparentes. Les bâtonnets immobiles forment des spores médianes. Le milieu devient légèrement acide.

Les spores de toutes ces espèces sont très résistantes; elles donnent aussi d'abondantes colonies après un chauffage de cinq ou six heures dans la vapeur à 100 degrés.

Ce sont probablement de ces microbes qu'ont décrit Van Tieghem (1) (Voy. p. 74), Mac Fadyen et Blaxal (2), Cohn (3), isolés comme ici de milieux très divers.

Oprescu (4) en a isolé cinq espèces de la terre de jardin. D'après lui, elles se distinguent facilement par leurs caractères de culture sur les milieux habituels et les diverses réactions que l'on peut alors constater.

Laxa (5) a trouvé dans les eaux de déchet des sucreries une espèce qui présente de grandes ressemblances morphologiques avec le *Proteus Zenkeri*.

Schillinger (6) en rencontre quatre espèces dans la terre de jardin.

Michaelis (7) donne une description de quatre espèces, qu'il a rencontrées dans diverses eaux de puits.

Tsilinski (8) a isolé six ou sept espèces d'eaux de sources thermales.

Toutes présentent ce caractère de végéter aisément à des températures élevées. Leur optimum de croissance paraît être vers 55°-60°; la végétation se fait encore sensiblement, quoique d'une façon bien ralentie, à 70°-73° et même 74°. La plupart ne végètent guère au-dessous de 40°; presque toutes ne croissent plus à 37 degrés.

(1) Van Tieghem, Sur les Bactériacées vivant à la température de 74° centigrades (*Bull. de la Soc. bot.*, XXVIII, 1881, p. 35).

(2) Mac Fadyen et Blaxal, Termophilie Bacterie (*Journ. of Pathol. and Bact.*, III, 1894).

(3) Cohn, *Bericht der deutschen bot. Gessellschaft*, 1893, p. 76.

(4) Oprescu, Studien über thermophile Bacterien (*Arch. für Hygiene*, XXXIII, 1898, p. 164).

(5) Laxa, Ueber einen thermophilen Bacillus aus Zuckerfabriksprodukten (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., IV, 1898, p. 362).

(6) Schillinger, Ueber thermophile Bakterien (*Hygienische Rundschau*, 1898, p. 568).

(7) Michaelis, Beiträge zur Kenntniss der thermophilen Bakterien (*Arch. für Hygiene*, XXXVI, 1900).

(8) Tsilinsky, Sur les microbes thermophiles des sources thermales (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XVII, 1899, p. 788).

Dans les microbes isolés par Tsilinski, il s'en trouvait un qui, sauf sa propriété thermophile, était absolument identique, dans tous ses caractères, au *Bacillus subtilis* type. De plus, il lui a été possible d'amener graduellement ce *Bacillus subtilis* à se développer abondamment à 58° après trente générations. Il est possible d'admettre que les Bacilles thermophiles ne sont que des types microbiens ordinaires qui se sont adaptés à ces conditions de vie spéciale, portant principalement sur la grande résistance de leur protoplasma à la chaleur.

BACILLES PHOSPHORESCENTS.

La curieuse propriété que possèdent certaines Bactéries d'émettre des lueurs dans l'obscurité a été depuis longtemps signalée sans qu'on ait eu, jusqu'il y a peu de temps, des détails assez précis sur les espèces qui la présentaient. Des recherches récentes en ont fait connaître plusieurs, que la forme des éléments et les caractères des cultures font facilement distinguer. Des données générales sur cette question ont été exposées dans la première partie de ce livre (p. 130); il n'est donc pas nécessaire de les répéter.

Fischer (1) a donné le nom de *Bacillus phosphorescens* à une très belle Bactérie lumineuse qu'il a isolée de l'eau de la mer des Indes, et retrouvée, dans les mêmes parages, sur des poissons ou d'autres animaux marins morts, luisant dans l'obscurité.

Cette espèce forme des bâtonnets très mobiles, isolés, réunis par deux ou plus en filaments. Les bâtonnets mesurent en moyenne de 1,15 µ à 1,75 µ de long et ont une largeur deux à trois fois moindre. Ils se colorent très bien aux méthodes ordinaires et n'ont jamais montré de spores à leur intérieur, mais seulement des vacuoles ne prenant pas la matière colorante. Les cultures s'obtiennent facilement sur tous les milieux habituels; elles sont plus abondantes lorsqu'on a ajouté une petite quantité, 2 ou 3 p. 100, de chlorure de sodium.

En culture sur plaques de gélatine, on observe au bout de trente-six heures de tout petits points ronds, grisâtres, qui, à un grossissement moyen, paraissent complètement homogènes et doués d'un éclat verdâtre. Ces colonies grossissent, deviennent brunâtres et s'enfoncent dans la gelée qu'elles liquéfient rapidement.

Inoculé en piqûre sur gélatine, ce Bacille a déterminé en trois ou quatre jours une dépression cupuliforme à la surface de la gelée, au fond de laquelle se trouve une mince couche grisâtre; le canal offre un léger trouble. La liquéfaction se fait ensuite plus lentement. A la surface du liquide trouble des vieilles cultures, nage une pellicule mince, jaune sale.

Sur gélose, il se forme une culture grisâtre qui ne présente rien de spécial, sauf sa propriété de luire dans l'obscurité.

Le sérum solidifié est un excellent terrain de culture; la Bactérie s'y développe en quelques jours en une bande grisâtre qui peut atteindre 1 centimètre de large.

La culture sur pomme de terre est blanche et mince.

(1) Fischer, Bacteriologische Untersuchungen auf einer Reise nach Westindien (*Zeitschr. für Hygiene*, II, 1re p., p. 54, 1887).

La viande, le poisson sont aussi d'excellents milieux. En peu de temps, les morceaux sont recouverts d'une couche mince, glaireuse, qui leur communique la propriété de luire dans l'obscurité.

L'inoculation à des poissons vivants n'a pas donné de résultats.

Dans le bouillon, en vingt-quatre heures, on observe un léger trouble. Il se forme vers le troisième jour une fine pellicule à la surface.

Le *Bacillus phosphorescens* est une espèce aérobie. Les cultures ont un optimum de 20 à 30°; elles ne progressent plus au-dessous de 10°; elles paraissent être plus vigoureuses sur les milieux additionnés d'une petite quantité de sel. Ces cultures ne développent aucune odeur et ne dégagent aucun gaz. L'inoculation, même de doses massives, aux animaux d'expérience a toujours été inoffensive.

La particularité la plus intéressante, qu'il manifeste sur tous les milieux, est celle de luire dans l'obscurité. La lumière est blanche, un peu bleuâtre ; son intensité est maxima de 25 à 30°; elle est à peine perceptible à 10°; elle disparaît dès que la culture est portée à 40 degrés.

Lehmann (1) a observé que l'oxygène était nécessaire pour que la phosphorescence se manifeste ; les parties profondes des cultures, où ce gaz ne pénètre pas, ne sont pas lumineuses; si l'on chasse l'air par un courant d'hydrogène ou d'acide carbonique, la phosphorescence disparaît.

La phosphorescence est sous la dépendance immédiate des cellules vivantes, car les bouillons de culture filtrés ne sont jamais phosphorescents.

Cette Bactérie paraît être dépourvue de toute action pathogène pour l'homme et les animaux d'expériences.

Fischer a rencontré une espèce différente de Bactérie photogène sur des poissons morts provenant de la mer du Nord (2). Ce sont de courts bâtonnets mobiles, de 1,3 à 2,1 μ de longueur sur une largeur qui varie entre 0,4 et 0,7 μ. Ils liquéfient lentement la gélatine et végètent au mieux entre 5° et 10°, ce qui les distingue nettement de l'espèce précédente. La lumière émise est en outre plus bleuâtre. Cette espèce doit être celle qu'ont signalée Pflüger et Ludwig (Voy. p. 130 et suiv.) sur les viandes de boucherie et le poisson de mer.

Forster (3) et Hermès (4) ont aussi étudié des Bactéries lumineuses qui semblent devoir être rapportées à une troisième espèce, se différenciant surtout par ce qu'elle ne liquéfie pas la gélatine. Elles ont été rencontrées également sur des poissons de la mer du Nord et se rapprochent beaucoup comme forme et dimensions de la dernière espèce décrite par Fischer, mais ne liquéfient pas la gélatine. La lumière qu'elles émettent est verdâtre. Elles se cultivent et luisent très bien de 0° à 20° et périssent rapidement à 37 degrés. Hermès a proposé pour cette espèce le nom de

(1) Lehmann, Studien ueber Bacterium phosphorescens Fischer (*Centralbl. für Bakt.*, 1889, V, p. 785).

(2) Fischer, Ueber einen lichtentwickelnden Bacillus (*Centralbl. für Bakt.*, 1888, III, p. 105).

(3) Forster, Ueber einige Eigenschaften leuchtenden Bacterien (*Ibid.*, II, p. 337).

(4) Hermès, 60° Versammlung deutscher Naturforscher und Aertze in Wiesbaden, 1887.

Bacterium phosphorescens. Il est très probable que c'est cette espèce que Cohn a décrite et nommée *Micrococcus phosphoreus* dès 1878 ; aussi devrait-on lui réserver le nom spécifique de *Bacillus phosphoreus* Cohn.

Dans une série de travaux plus récents, Beyerinck (1) décrit cinq espèces de Bactéries photogènes, les trois précédentes et deux nouvelles, se distinguant par les caractères des cultures et certaines particularités biologiques. Il les réunit dans le genre *Photobacterium*, simplement établi sur la curieuse propriété physiologique d'émettre des lueurs dans l'obscurité; rien ne permet de distinguer ce groupe du genre *Bacillus* tel qu'il doit être compris.

Le *Bacillus phosphorescens* de Fischer devient son *Photobacterium indicum* ; l'espèce rencontrée sur les poissons de la mer du Nord par Pflüger, et sur la viande par Ludwig, est son *Photobacterium Pflügeri*; enfin, son *Photobacterium phosphorescens* est celle cultivée par Forster et Hermès. Les deux espèces nouvelles ont été nommées par lui *Photobacterium luminosum* et *Photobacterium Fischeri*.

Le *Photobacterium luminosum* de Beyerinck est la cause de la phosphorescence de la mer du Nord ; il vit sur un grand nombre d'animaux dits phosphorescents, Crustacés, Polypes, Infusoires, même les Noctiluques. Il se cultive très facilement sur la gélatine préparée au bouillon de poisson. Il liquéfie ce milieu. Son développement est abondant sur certains milieux azotés, ceux qui contiennent de l'asparagine et de la peptone par exemple. Lorsque ces substances sont en proportion suffisante, 1/2 à 1 p. 100, on ne perçoit aucune odeur ; il se produit, au contraire, une odeur putride lorsque sa nourriture azotée est insuffisante.

Les bâtonnets de cette espèce mesurent environ 2 μ de long sur 0,7 μ de large ; leurs extrémités sont arrondies ; ils sont très mobiles. Ils se colorent faiblement par les colorants habituels.

La lumière produite par les cultures est très pâle et légèrement jaunâtre.

Le *Photobacterium Fischeri* liquéfie la gélatine comme le précédent ; ses colonies y forment de profondes excavations. Les éléments sont plus petits ; ils mesurent 1 μ de long sur 0,1 à 0,3 μ de large. La lumière dégagée est aussi intense que celle de la première Bactérie de Fischer, mais ne présente pas sa teinte bleuâtre, ni la coloration bleu vert de celle des deux autres Bactéries suivantes ; elle a plutôt une nuance orange et moins de brillant.

Ce sont certainement ces mêmes espèces qui ont été retrouvées par Katz (2), en Australie, dans des conditions très semblables à celles où elles ont été découvertes. Dans l'important mémoire que cet auteur vient de publier, il donne les caractères de six espèces de ces intéressants microbes.

(1) Beyerinck, Le *Photobacterium luminosum*, Bactérie lumineuse de la mer du Nord (*Arch. néerl. des sc. exactes et naturelles*, XXIII, 1889, p. 401). — *Id.*, Les Bactéries lumineuses dans leurs rapports avec l'oxygène (*Ibid.*, p. 416). — *Id.*, Dver lichtvardsel du plastichvordsel vad Lichtbacterien (*Acad. van Wesenschappen*, Amsterdam, 1890).

(2) Katz, Zur Kenntniss der Leuchtbacterien (*Centralbl. für Bakt.*, IX, 1891, nos 5, 6, 7, 8, 9 et 10).

Le *Bacillus cyaneo-phosphorescens* a été isolé directement d'eau de mer prise à la côte, aux environs de Sidney. Il est identique au premier *Bacillus phosphorescens* trouvé par Fischer dans la mer des Indes et par conséquent au *Photobacterium indicum* de Beyerinck.

Le *Bacillus smaragdino-phosphorescens* a été trouvé au marché de Sidney sur une espèce de hareng (*Clupea hypelosoma*) qui avait été trempé dans l'eau de mer fraîche et conservé entre deux assiettes ; en peu de temps, toute la surface montrait des points lumineux. Il doit être rapproché de la Bactérie phosphorescente de Cohn, de Hermès, de Forster, de Ludwig, du *Photobacterium Pflügeri* de Beyerinck.

Le *Bacillus argenteo-phosphorescens I* a été isolé de l'eau de la baie de Sidney. Il est voisin de la Bactérie trouvée par Fischer dans la mer du Nord ou du *Photobacterium Fischeri* de Beyerinck.

Le *Bacillus argenteo-phosphorescens II* a été trouvé sur un morceau de chair d'un poulpe, devenu lumineux spontanément.

Le *Bacillus argenteo-phosphorescens III* a été obtenu en même temps; il est très voisin du précédent.

Le *Bacillus argenteo-phosphorescens liquefaciens* provient de l'eau de mer des environs de Sidney; il doit être identique au *Photobacterium luminosum* de Beyerinck.

La nuance de la lumière émise est variable, comme l'indiquent les dénominations. Dans les cultures récentes, la couleur de la lumière de la première de ces espèces est bleuâtre avec une petite pointe de vert; celle de la seconde est souvent d'un vert-émeraude; les autres espèces donnent une lumière plus blanche, d'un blanc d'argent doux.

Le *Photobacterium javanense* d'Eijkmann (1), trouvé à Batavia sur des poissons morts, se distingue en ce qu'il ne liquéfie pas la gélatine et vit au mieux entre 23 et 33 degrés.

Giard et Billet (2) ont pu isoler et cultiver une Bactérie qui rend lumineux de petits Crustacés marins, les Talitres, en pullulant à la surface de leur corps ou dans l'intérieur même des tissus. Cette Bactérie, comme les précédentes du reste, est pathogène pour ces animaux marins. Billet propose de la nommer *Bacterium Giardi*. D'après Russell (3), elle ne serait pas pathogène pour les autres Crustacés.

Hermann (4) a rencontré sur du homard cuit devenu phosphorescent un Bacille à très petits bâtonnets, à peine plus longs que larges, prenant même dans les jeunes cultures l'aspect d'un Microcoque disposé en Staphylocoque. Ce microbe est mobile; il reste coloré par la méthode de Gram et ne liquéfie pas la gélatine. Il se cultive sur tous les milieux ordinaires et au mieux sur la gélatine faite avec du bouillon de hareng. Les cultures montrent dans l'obscurité une belle phosphorescence verte; la lumière se développe déjà à 10° et au mieux à 20 degrés.

(1) Eijkmann, Lichtgevende Bacterien (Ref. in *Centralbl. für Bakt.*, XII, 1892, p. 656).

(2) Giard et Billet, Observations sur la maladie phosphorescente des Talitres et autres Crustacés (*Soc. de Biol.*, 19 octobre 1889). — *Id.*, Nouvelles recherches sur les Bactéries lumineuses pathogènes (*Ibid.*, 16 avril 1890). — Billet, Contribution à l'étude de la morphologie et du développement des Bactériacées (*Bull. sc. de la France et de la Belgique*, XXI, 1898, p. 144).

(3) Russell, Impfungsversuche mit Giard's pathogenen Leuchtbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, XI, 1892, p. 557).

(4) Herman, La phosphorescence bactérienne (*Le Scalpel*, 25 février 1899. Liége).

Des Bactéries tout autres peuvent présenter, d'une façon irrégulière, peut-être, ce curieux phénomène de la phosphorescence.

Kutscher (1) signale une forte phosphorescence verdâtre chez des Spirilles voisins de celui du choléra, isolés de selles d'individus atteints de diarrhées cholériformes, ou isolés d'eau de l'Elbe pendant l'épidémie de Hambourg.

La phosphorescence de certains Agarics, d'après Patouillard, serait aussi due à la présence de Bactéries photogènes. Il en est de même aussi de la phosphorescence observée chez d'autres animaux vivants, Géophiles (2), Taupe-grillon (3), etc.

La nature intime de ce curieux phénomène est encore bien peu connue. Pour Dubois (4), les microbes lumineux produiraient une diastase particulière, la *luciférase*, qui donnerait lieu au phénomène de la phosphorescence, au contact des produits organiques phosphorés contenus dans le milieu où ils vivent. La lumière a une action marquée sur la phosphorescence, qu'elle arrive à faire disparaître assez rapidement ; les cultures conservées à l'obscurité gardent bien plus longtemps la propriété d'être phosphorescentes.

BACILLUS LIODERMOS Flugge.

Ce sont de courts bâtonnets très mobiles, communs dans l'air et venant fréquemment contaminer les milieux de culture.

En culture sur plaques de gélatine, ils donnent de petites colonies irrégulières qui liquéfient rapidement ; la colonie forme une pellicule blanchâtre au-dessus du liquide.

En piqûre dans la gélatine, la liquéfaction se fait vite ; le liquide trouble laisse déposer des flocons d'un gris sale.

Sur pomme de terre, ils forment d'abord un revêtement transparent, lisse, brillant, semblable à une mince couche de solution de gomme, qui se transforme, au moment de la sporulation, en une membrane épaisse, fortement plissée, mais ne pénétrant pas dans le substratum, comme certaines des espèces précédentes. La matière gommeuse est soluble dans l'eau.

Le lait est coagulé et le précipité de caséine peptonisé ; l'acide lactique est transformé en acide butyrique.

A rapprocher peut-être des *Bacilles visqueux* suivants.

BACILLUS VISCOSUS.

Un grand nombre de liquides, contenant des sucres en dissolution, deviennent filants dans certaines circonstances. Sous l'influence du développement, à leurs dépens, de divers microorganismes, il se forme

(1) Kutscher, Ein Beitrag zur Kenntniss der den Cholera Vibrionenähnlichen Wasserbakterien (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1893, n° 49).

(2) Macé, Sur la phosphorescence des Géophiles (*Soc. de Biol.*, 1888).

(3) Ludwig, Ueber die Phosphorescenz von Gryllotalpa vulgaris (*Centralbl. für Bakt.*, IX, 1891, p. 561).

(4) Dubois, Sur le rôle de la symbiose chez certains animaux marins lumineux (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CVII, 1888, p. 502). — *Id.*, Extinction de la luminosité du *Photobacterium sarcophilum* par la lumière (*Soc. de Biol.*, 11 février 1893).

un composé ternaire qui communique au liquide une viscosité très grande, parfois telle que le milieu a une consistance gélatineuse. Plusieurs espèces de Bactéries peuvent produire ce phénomène que l'on peut considérer comme une véritable *fermentation visqueuse.* Nous savons déjà que le *Micrococcus viscosus* est un agent commun de l'*altération visqueuse* ou *maladie de la graisse* des vins (Voy. p. 445); le *Micrococcus Freudenreichii* (p. 450) rend le lait très visqueux.

Van Laer (1) a isolé de nombreux échantillons de bières filantes des Bactéries en bâtonnets qu'on doit considérer comme la cause de l'altération de ces boissons; obtenues en cultures pures et reportées dans des moûts stérilisés, elles occasionnent toujours, en effet, une altération visqueuse typique. D'après lui, deux espèces de Bacilles sont toujours associées dans les bières filantes. Il les désigne sous les noms de *Bacillus viscosus n° 1* et *Bacillus viscosus n° 2.*

Ce sont des bâtonnets très grêles de 1,6 μ à 2,4 μ de long sur 0,8 μ de large; les éléments du *Bacillus viscosus n° 1* sont plus grêles que ceux de son congénère. Ces bâtonnets sont ordinairement isolés, mais aussi souvent accolés deux par deux par du mucilage; les chaînettes de trois ou quatre individus sont rares.

Ces Bactéries s'isolent facilement à l'aide des cultures sur plaques.

Ces deux espèces se développent d'une façon identique sur gélatine et gélose.

En cultures sur plaques, les colonies sont visibles à l'œil nu, au bout de quarante-huit heures, à la température ordinaire; elles sont rondes ou ovales. Celles qui sont à la surface sont un peu bombées, blanches par transparence et jaunâtres par réflexion, légèrement visqueuses. En grandissant, les bords deviennent irréguliers; la partie centrale est moutonnée. La gélatine n'est pas liquéfiée.

En tubes de gélatine, on obtient une culture blanche, à bords sinueux, qui se développe aussi dans le canal de la piqûre. On n'observe jamais de liquéfaction.

Sur gélose vers 33°, le développement est très rapide; il se forme une large bande blanche, glaireuse.

Dans le moût de bière liquide houblonné, le *Bacillus viscosus n° 1* rend le milieu filant au bout de vingt-quatre heures, à 27 degrés. Au bout de quarante-huit heures, le liquide est trouble et tellement visqueux que sa consistance ressemble à celle de l'albumine; il se dégage en même temps de grandes quantités d'acide carbonique. Puis la viscosité augmente, le dégagement d'acide carbonique diminue. Le liquide reste trouble, avec une couleur brune et une odeur caractéristique; sa surface est recouverte d'îlots d'une matière glaireuse, blanc jaunâtre, envoyant des ramifications dans la profondeur. Ce voile est souvent soulevé en petits mamelons par des bulles de gaz qu'il emprisonne.

Dans le même milieu, le *Bacillus viscosus n° 2* produit une viscosité bien moindre, le dégagement d'acide carbonique est beaucoup moins abondant et il ne se forme pour ainsi dire pas de matière glaireuse à la surface du liquide.

(1) Van Laer, Note sur les fermentations visqueuses (*Mém. de l'Acad. roy. de Belgique*, XLIII, 1889. Et : *C. R. de la station sc. de brasserie de Gand*, I, 1890).

Ces Bactéries se cultivent très bien dans le lait en lui communiquant une grande viscosité. Le liquide montre à la surface une couronne jaune verdâtre, très gluante; la caséine est précipitée, puis dissoute; le sérum prend une belle fluorescence verte.

Sur pomme de terre, il se forme une colonie blanche, mamelonnée, très visqueuse, ne se développant pas dans la profondeur. La culture dégage une odeur de poisson pourri.

Ces ferments visqueux, ajoutés à la bière après fermentation à l'aide de Levure pure, ne la font plus filer. Le filage se produit au contraire plus rapidement que dans le moût stérilisé, quand on ajoute en même temps un peu de carbonate d'ammoniaque. C'est probablement la raison pour laquelle les bières fabriquées avec de l'eau qui a reçu des infiltrations de fosses d'aisances deviennent souvent filantes.

Van Laer croit que la matière visqueuse est formée uniquement aux dépens des substances azotées; les matières sucrées sont plutôt contraires à l'apparition et au développement de la fermentation visqueuse. De faibles traces d'acidité s'opposent aussi à l'altération, mais seulement quand la proportion de substances azotées n'est pas trop forte.

D'après lui, la glaire produite contiendrait deux substances visqueuses : l'une, insoluble dans l'eau, de nature azotée, donnant la réaction du biuret: l'autre, soluble dans l'eau, précipitable par l'alcool absolu et ne donnant aucune des réactions des matières azotées.

Ce même auteur dit avoir isolé un troisième *Bacillus viscosus*, qui diffère des premiers en ce qu'il liquéfie la gélatine; il n'en a pas encore donné d'autres caractères.

Dans les bières présentant l'altération connue à Bruxelles sous le nom de *double face*, dû à l'aspect différent que présente le liquide suivant qu'on l'examine par transparence ou par réflexion, il a rencontré un autre microbe voisin qu'il nomme *Bacillus viscosus bruxellensis*, cause de la maladie (1).

Ce sont des bâtonnets de 1,7 μ à 2,8 μ de long sur 0,5 μ à 0,8 μ de large, entourés d'une capsule bien nette dans les milieux qui ne deviennent pas visqueux. Dans les cultures filantes, tous les éléments sont réunis par une masse glaireuse.

Sur plaques de gélatine au moût, le microbe donne de grandes colonies arrondies, translucides, visqueuses, à zones annulaires; le bord est blanc et le centre jaune. La gélatine n'est pas liquéfiée. En piqûre, sur le même milieu, il forme une colonie blanche, visqueuse.

Le moût de bière se trouble et devient visqueux; sa surface se recouvre d'une couche glaireuse blanchâtre. Il se dégage de l'acide carbonique.

Au bout d'un certain temps, la viscosité a disparu; le liquide est couleur café au lait, d'odeur désagréable.

Le lait se coagule sans présenter de viscosité.

L'eau de Levure additionnée de saccharose, dextrose, maltose, lactose.

(1) Van Laer, Recherches sur les bières à double face (*Ann. de l'Inst. Pasteur* XIV, 1900, p. 82).

ne devient pas filante la plupart du temps; elle le devient toujours en ajoutant de la peptone ou de l'asparagine.

Les saccharoses peptonisés deviennent gluants.

Sur pomme de terre, il se forme une colonie grisâtre, visqueuse.

Aux dépens des matières ternaires, il se forme de l'acide lactique ordinaire, un peu d'acide butyrique et d'acide acétique.

Certaines associations, la présence de *Mycoderma vini* surtout, sont favorables à la production et à la persistance de la viscosité.

Kramer (1) a décrit d'autres microbes occasionnant des altérations de même nature, qui paraissent différents des précédents.

Son *Bacillus viscosus sacchari* détermine la viscosité dans les solutions neutres ou faiblement alcalines de saccharose. Ce sont des bâtonnets de 2 à 4 μ de long sur 1 μ de large, à extrémités arrondies, souvent réunis en longues chaînettes, immobiles. Il liquéfie la gélatine, donne une culture blanchâtre sur gélose, une couche blanc sale, filante sur pomme de terre, une couche muqueuse hyaline sur betterave. Il ne croît pas dans les milieux acides.

Son *Bacillus viscosus vini* se développe dans les solutions de glucose à réaction acide, particulièrement dans le vin. Ce sont des bâtonnets de 2 à 6 μ de long sur 0,6 à 0,8 μ de large; on trouve souvent des filaments atteignant près de 14 μ de longueur. C'est une espèce anaérobie qui ne croît que dans les milieux acides.

Une troisième espèce est un *Micrococcus* qui produit le filage des solutions de sucre de lait faiblement alcalines ou très légèrement acides. Elle occasionne la viscosité du lait, où les deux espèces précédentes ne se développent pas.

Pour Kramer, la substance visqueuse est voisine, comme composition et nature, de la cellulose.

Adametz (2) a donné le nom de *Bacillus lactis viscosus* à une Bactérie qu'il a isolée de lait devenu spontanément visqueux. Ce sont de très courts bâtonnets immobiles de 1 μ à 1,5 μ de long sur 1 μ de large, qui présentent d'ordinaire une sorte de capsule épaisse. Ce microbe se cultive bien sur tous les milieux habituels. Ses colonies sur plaques de gélatine glycérinée sont caractéristiques. Elles ne liquéfient pas la gélatine et se développent rapidement, atteignant environ 1 centimètre en une semaine. Elles forment une masse muqueuse, mince, transparente, à reflets d'opale, à bords plus ou moins sinueux. En en transportant dans du lait stérilisé, on n'observe d'abord aucune modification appréciable pendant deux ou trois jours, puis le liquide devient filant et sa viscosité augmente avec l'âge.

G. et P. Frankland (3) décrivent sous le nom de *Bacillus viscosus* une espèce qui abonde dans l'eau de rivière et qui paraît n'être que

(1) Kramer, Studien über die schleimige Gährung (*Sitzungsber. der K. Acad. der Wissensch. in Wien*, X, 1889, p. 467).

(2) Adametz, Ueber einen Erreger der schleimigen Milch, Bacillus lactis viscosus (*Milch Zeitung*, 1889, p. 941).

(3) Gran et Percy Frankland, Ueber einige typische Microorganismen im Wasser und in Boden (*Zeitschr. für Hygiene*, VI, 1889, p. 373).

le *Bacillus fluorescens liquefaciens* si commun partout. Il ne communique, du reste, aux milieux de culture, qu'une viscosité bien moins marquée que celle occasionnée par les espèces précédemment citées.

L'*Actinobacter polymorphus* de Duclaux rend le lait très filant, lui donne même une consistance gélatineuse. Le *Bacillus mesentericus vulgatus* et, à un degré moindre, le *Bacillus liodermos* communiquent aussi de la viscosité à certains milieux de culture.

Happ (1) a décrit, sous le nom de *Bacillus gummosus*, un Bacille qu'il a isolé d'une infusion végétale devenue filante. Les bâtonnets mesurent de 5 μ à 7,5 μ de long sur 0,6 μ à 2 μ de large ; ils sont lentement mobiles et forment des spores ovoïdes.

En cultures, ce microbe liquéfie rapidement la gélatine.

La matière gommeuse produite aux dépens des sucres est soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool et l'éther. A côté d'elle, comme sous-produits de la fermentation, on trouve de la mannite, de l'acide lactique, de l'acide butyrique et de l'acide carbonique.

Nicolas (2) a rencontré dans les fausses membranes d'une angine un gros Bacille qui, cultivé dans le bouillon, le rend gélatineux et lui fait prendre l'aspect du sirop d'orgeat.

Les bâtonnets ont de 10 à 20 μ de long sur 1 μ de large ; ils ont une capsule bien nette. Ils se décolorent par la méthode de Gram. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Le microbe est pathogène pour le cobaye. En inoculation sous-cutanée, il produit de la suppuration, avec les grands Bacilles dans le pus. En inoculation intrapéritonéale, il tue l'animal en seize heures ; le péritoine présente des fausses membranes renfermant le microbe.

BACILLUS MYCOIDES Flugge.

Atlas de microbiologie, pl. XLIII.

Il s'observe fréquemment dans la terre de champs ou de jardins, prise à la surface ; il est assez commun dans l'eau. Les dimensions et l'aspect des bâtonnets rappellent le *Bacille du charbon*, mais les premiers sont nettement mobiles. Ils peuvent former de longs filaments dans lesquels naissent des spores ovales.

En culture sur *plaques de gélatine*, il se développe en petites colonies blanchâtres, très ramifiées, ressemblant à un jeune mycélium de Moisissure. La liquéfaction de la gélatine se fait vite.

Par inoculation en *piqûre* dans la *gélatine*, on obtient dans le canal une minime culture blanchâtre, d'où partent perpendiculairement de minces filaments ramifiés. La liquéfaction commence alors à la surface et s'étend bientôt à tout le tube. Le liquide est clair, surmonté d'une

(1) Happ, Bakteriologische und chemische Untersuchungen über die schleimige Gährung (*Centralbl. für Bakt.*, XIV, 1893, p. 175).

(2) Nicolas, Sur la coexistence d'une angine pseudo-membraneuse atypique et d'un microbe nouveau (*Arch. de méd. expér.*, X, 1898).

membrane blanchâtre et a laissé déposer de gros flocons de même nuance.

Sur *gélose en strie*, on n'observe presque rien à la surface ; en très peu de temps, vingt-quatre heures à 35°, toute la gelée est envahie par des filaments sinueux, partant de la strie, qui lui donnent l'aspect opaque. Le long de la strie, il ne se forme qu'une très mince culture.

Sur *pomme de terre*, on obtient une bande blanchâtre, muqueuse, limitée à la strie d'inoculation.

Dans le *bouillon*, il se produit de gros flocons blancs, denses, qui tombent au fond du vase, où ils forment un dépôt grossier, léger. Le liquide reste toujours clair.

Ce microbe produit de fortes quantités d'ammoniaque aux dépens des matières albuminoïdes, surtout des peptones et de la gélatine. C'est un des principaux agents de la fermentation ammoniacale de ce groupe de substances qui s'opère dans le sol.

D'un autre côté, comme l'a montré Marchal (1), il réduit énergiquement les nitrates, formant d'abord de l'acide nitreux, puis de l'ammoniaque.

L'introduction de doses massives dans l'organisme n'occasionne pas d'accidents.

BACILLUS RADICOSUS.

(*Wurzelbacillus.*)

C'est une espèce commune dans l'eau, très voisine de la précédente.

Les éléments sont de courts bâtonnets à extrémités arrondies ; ils mesurent environ 2 μ de long sur près de 1 μ de large. Ils sont peu mobiles et fréquemment réunis en chaînes. Beaucoup peuvent avoir des spores en leur milieu.

En culture sur *plaques de gélatine*, les colonies se voient aisément, au bout de quarante-huit heures, sous forme de petits nuages blanchâtres, ressemblant à un mycélium de Moisissure. A un faible grossissement, ces colonies apparaissent formées par l'enchevêtrement de fins filaments tordus et souvent bouclés. La gélatine est liquéfiée.

En *piqûre dans la gélatine*, il se produit, le long de la piqûre, des filaments très ténus qui peuvent atteindre la paroi du tube ; l'aspect rappelle celui d'une radicelle. La liquéfaction s'opère rapidement.

Sur *gélose*, il se développe une culture blanche, qui s'épaissit et se plisse.

Sur *pomme de terre*, la culture est très abondante, grisâtre, muqueuse.

Le *bouillon* se trouble peu ; il se forme à la surface un mince voile qui se désagrège à la longue et donne un dépôt blanchâtre au fond du vase.

(1) Marchal, Sur la production de l'ammoniaque dans le sol par les microbes (*Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, XXV, 1893).

BACILLUS MYCOIDES ROSEUS Scholl.

Scholl (1) l'a isolé de la terre de jardin.

Il est très semblable, comme forme des éléments et aspect des cultures, au *Bacillus anthracis*. Il s'en distingue par l'absence de tout pouvoir pathogène et la production d'un pigment rose.

La gélatine est rapidement liquéfiée ; à la surface du liquide, il se forme une pellicule rougeâtre et, au fond, un dépôt de même nuance. Sur gélose, la colonie est d'un rouge rosé vif.

D'après Schneider (2), le pigment est insoluble dans l'eau, chaude ou froide, soluble dans l'alcool, la benzine, le chloroforme, le sulfure de carbone et l'éther. Traitée par une goutte d'acide sulfurique, la solution alcoolique conserve d'abord sa couleur, puis plus tard devient bleu verdâtre; l'acide chlorhydrique ne produit guère de changement. L'addition d'ammoniaque ne fait rien ; la potasse fait passer au jaune d'or. Le spectre est très caractéristique ; il montre une bande d'absorption qui s'étend de 95 à 99; puis le spectre redevient net jusqu'à 114 ; de 114 à 116, on voit un assombrissement, puis une absorption complète.

BACILLUS STOLONATUS Adametz.

C'est une espèce assez commune dans l'eau.

Les bâtonnets, très mobiles, sont deux fois et demie aussi longs que larges.

En culture sur *plaques de gélatine*, les colonies profondes sont d'un jaune brun, sphériques ou ovoïdes, finement granuleuses ; celles de la surface sont blanchâtres ou brunâtres, et proéminent assez fortement. La gélatine n'est pas liquéfiée, mais prend souvent une teinte brune autour de la colonie.

Sur *gélose*, la culture est très caractéristique. D'une partie centrale partent un petit nombre de tractus rameux qui produisent latéralement de fins filaments onduleux. La colonie atteint jusqu'à 3 centimètres de largeur.

La culture sur *pomme de terre* est d'un blanc sale.

BACILLUS AEROPHILUS Liborius.

C'est encore une des nombreuses espèces de l'air, qui viennent envahir les cultures.

Les bâtonnets sont grêles, isolés ou réunis à plusieurs en filaments ; ils présentent parfois une sorte de mince capsule. Ils sont très avides d'oxygène et ne se développent que dans les couches supérieures des milieux.

Ce bacille donne, en culture sur plaques, de petites colonies ovalaires, d'un jaune verdâtre. La gélatine se liquéfie rapidement, avant que l'aspect des colonies ait changé.

En piqûre, il donne un large entonnoir de liquéfaction. Le liquide est jaune sale, peu trouble.

(1) Scholl, *Fortschr. der Med.*, 1889, p. 46.
(2) Schneider, *Arb. aus dem bakt. Inst. der Techn. Hochschule zu Karlsruhe*, I, p. 212.

Sur pomme de terre, on observe une couche jaunâtre mate, d'aspect cireux, qui se dessèche ensuite et devient chagrinée.

BACILLUS TUMESCENS Zopf.

Zopf (1) l'a obtenu en exposant à l'air des tranches de carottes cuites. Il s'y forme souvent, en peu de jours, de petites zooglées gélatineuses, discoïdes, atteignant 1 centimètre de diamètre, donnant ensuite une membrane plissée, visqueuse, blanchâtre. Cette membrane est formée de courts bâtonnets qui produisent des spores rondes.

BACILLUS DYSODES Zopf.

C'est une Bactérie qui occasionne, d'après Zopf (2), une sorte de fermentation du pain. Le pain devient mou, visqueux ; il exhale une odeur désagréable, analogue à celle d'un mélange d'essence de menthe et d'essence de térébenthine. On observe d'assez longs bâtonnets et des filaments; les articles peuvent former des spores elliptiques.

Pour se préserver de ce ferment nuisible, Zopf recommande de laver la levure, qu'il croit être la cause du dommage, avec de l'eau acidulée avec 1/2 p. 100 d'acide chlorhydrique.

BACILLUS POLYMYXA Prazmowski.

(*Clostridium polymyxa.*)

Il se développe sur les tranches de betteraves et de navets cuits, exposées à l'air. Il y forme de grosses masses de consistance gélatineuse, ridées, ressemblant un peu aux zooglées du *Leuconostoc mesenteroides*.

Ces masses contiennent des bâtonnets mobiles ressemblant à ceux du *Bacillus butyricus*, qui produisent des spores de la même manière que ces derniers, après s'être gonflés en ellipse ou en massue. Ces spores sont elliptiques, plus petites que les bâtonnets. Les éléments qui proviennent de cultures sur pomme de terre se colorent en bleu ou en violet par l'iode.

Il se cultive sur les milieux liquides en donnant à la surface une épaisse membrane crémeuse.

On doit peut-être lui attribuer le pouvoir de dissoudre la cellulose et l'amidon et de les faire fermenter.

BACILLUS LINEOLA Muller.

Cette espèce très ancienne (3) est loin d'être nettement définie. Les descriptions qui en sont données ne suffisent pas à la faire reconnaître avec certitude. C'est selon toute probabilité le *Bacterium triloculare* d'Ehrenberg, auquel ce savant a décrit des cils vibratiles formant ce qu'il appelait les *trompes*.

Elle se rencontre dans l'eau stagnante, constituant souvent une pellicule à la surface.

(1) Zopf, Die Spaltpilze, p. 93.
(2) Zopf, *Ibid.*, p. 82 et 90.
(3) O.-F. Muller, Animalcula infusoria fluviatilia et marina, 1786.

Les cellules sont de gros bâtonnets cylindriques, très mobiles, mesurant de 3,8 μ à 5,25 μ de long et jusqu'à 1,5 μ de large. Le protoplasma très réfringent renferme de nombreuses granulations. Ils sont isolés ou réunis par deux, rarement par quatre ; on ne rencontre jamais de longs filaments. Ils forment des zooglées rondes ou lobées, dans lesquelles on trouve les articles immobiles, renfermés dans une masse gélatineuse transparente, d'où ils sortent facilement pour se mouvoir dans le liquide.

BACILLUS ULNA Cohn.

Il a été observé par Cohn, puis par Prazmowski dans l'eau putréfiée, sur le blanc d'œuf cuit, sur les œufs pourris.

Ce sont de très gros bâtonnets de 4 à 10 μ de long sur 1,5 à 2 μ de large, réunis par deux, par quatre ou en grandes chaînes droites ou sinueuses. Les mouvements sont un peu lourds. Dans les milieux favorables, ils forment de longs filaments. Les articles produisent de grosses spores ovoïdes, parfois en ellipse allongée de 2 à 2,8 μ de long sur 1 μ de large.

Les cultures ne réussissent bien que sur les milieux riches en albumine. Sur les liquides, elles donnent une pellicule épaisse sèche ; sur le blanc d'œuf cuit, de petites zooglées muqueuses dont le développement ne modifie en rien la couleur ni la consistance du substratum.

Tableau résumant les caractères les plus impo

DESIGNATION DES ESPÈCES.	HABITAT.	CARAC		
		SUR PLAQUES.	SUR GÉLATINE.	SUR
Bacillus aceti, p. 941	Air.	»	Peau épaisse, hyaline, presque cartilagineuse.	Cultur jaunâtre, consistan
B. aerophilus, p. 1003	Air.	Petites colonies jaune verdâtre, liquéfiant très vite.	Liquéfie; liquide jaune sale.	
B. alvei, p. 875	Abeilles mortes du Foolbrod.	Colonies ovoïdes, émettant de nombreux tractus filamenteux.	Nombreux filaments blanchâtres dans la gelée, puis liquéfaction lente.	Minc blanchât
B. anthracis, p. 482	Sang des animaux charbonneux.	Colonies floconneuses liquéfiant la gélatine.	Filament duveteux autour de la piqûre, puis liquéfaction.	Couch crémeus
B. botulinus, p. 799	Viandes altérées.	Colonies radiées.	Liquéfaction.	Dégag zeux.
B. butyricus, p. 946	Air.	»	»	Troubl dans la l'abri de
B. cæruleus, p. 916	Eau.	»	La gelée est liquéfiée en partie, les couches supérieures du liquide sont teintes en bleu.	
B. catenula (*Tyrothrix catenula*), p. 965.	Caséine fermentée.	»	»	
B. cavicida, p. 847	Excréments et matières en putréfaction.	Colonies formées d'anneaux blanchâtres, concentriques, dont la disposition rappelle une carapace de tortue.	La gélatine devient visqueuse.	
B. caucasicus, p. 952	Grains de képhyr.	»	»	
B. du chancre mou, p. 880	Lésions chancrelleuses.	»	»	Se cu gélosefai macérati humaine
B. Chauvæi, p. 671	Animaux atteints de charbon symptomatique.	Cultures à filaments radiaires, liquéfiantes.	Liquéfie.	Prod gaz; od que.
B. chlorinus, p. 921	Air ou eau.	Petites colonies rondes, d'un jaune vert, qui liquéfient très vite.	Liquéfaction rapide; dépôt blanchâtre.	Larg jaune ve
B. chlororaphis, p. 922	Eau.	Colonies liquéfiant rapidement.	Liquéfaction rapide; des cristaux verts.	Bande
B. choleræ gallinarum, p. 802	Oiseaux atteints du choléra des poules.	Petites colonies blanchâtres.	Ne liquéfie pas; culture en clou, blanchâtre.	Bande mince.
B. claviformis (*Tyrothrix claviformis*), p. 965	Caséine fermentée.	»	»	

…es principales espèces du genre *BACILLUS*.

…TURES.		CARACTÈRES DES CELLULES.	INFLUENCE DE L'OXYGÈNE ET DE LA CHALEUR.	ACTION PHYSIOLOGIQUE.	OBSERVATIONS PARTICULIÈRES.
SUR …MME DE TERRE.	SUR BOUILLON.				
»	Peau épaisse consistante. Liquide clair.	Bâtonnets de 3,6 μ sur 0,6 μ, mobiles lorsqu'ils sont libres.	Aérobie.	Agent de la fermentation acétique de l'alcool.	»
…ouche jaune ci…se, puis chagri…	»	Bâtonnets grêles.	Aérobie.	Saprophyte.	»
…ellicule jaunâtre.	»	Bâtonnets lentement mobiles, de 3,5 μ de long sur 0,8 μ. Spores de 2,12 μ sur 1,07.	»	Pathogène pour les abeilles.	Odeur fade, urineuse.
…ulture épaisse …nc sale.	Flocons blanchâtres, liquide clair, dépôt léger.	Bâtonnets immobiles de 5 à 6 μ sur 1 μ à 1,5 μ, souvent unis en filaments où se produisent les spores.	Aérobie.	Pathogène.	»
»	»	Bâtonnets de 5 μ à spores terminales.	Anaérobie.	Pathogène.	Odeur butyrique.
»	»	Bâtonnets de 3 à 5 μ sur 0,6 à 0,8 μ, très mobiles. Spores plus grosses que les bâtonnets.	Anaérobie.	Agent de la fermentation butyrique des hydrocarbonés.	Au moment de la sporulation, les cellules renferment de la substance amylacée, colorable en bleu par l'iode.
…eau bleu sombre, …s bleu noir.	»	Cellules de 2 à 2,5 μ sur 2,5 μ, fréquemment unies en chaîne.	La matière colorante ne se produit qu'à l'air.	»	Pigment insoluble dans l'eau, l'alcool, les acides.
»	»	Bâtonnets de 4 à 5 μ sur 1 μ, lentement mobiles.	Anaérobie facultatif.	Ferment des albuminoïdes.	Grosse spore ovale au milieu de l'article.
…ouche jaune	»	»	»	Pathogène.	Produit de l'acide propionique aux dépens des sucres.
»	»	Bâtonnets de 3.2 à 8 μ sur 0,8, mobiles lorsqu'ils sont libres.	»	»	Dissout la caséine précipitée.
»	»	Bâtonnets de 1,3 à 2 μ sur 0,5 à 1 μ, réunis en strepto-bacilles.	Aérobie.	Pathogène pour l'homme.	Se décolore par la méthode de Gram.
»	»	Bâtonnets mobiles de 5 à 8 μ sur 1 μ.	Anaérobie.	Pathogène.	»
»	Trouble; liquide vert-pomme et dépôt blanc verdâtre.	»	»	»	Pigment soluble dans l'alcool.
…açure jaunâtre.	Trouble rapide, nombreux petits cristaux verts.	Bâtonnets de 1,5 μ sur 0,8 μ.	»	Saprophyte.	Aiguilles cristallines vertes.
…etite pellicule …âtre.	Trouble rapide.	Bâtonnets immobiles, de 1 à 1,2 μ sur 0,3 μ à 0,6 μ.	Aérobie.	Pathogène.	»
»	»	Bâtonnets de 1,8 μ sur 1 μ.	Anaérobie.	Ferment des albuminoïdes.	Les spores se forment à une extrémité renflée.

Tableau résumant les caractères les plus importan

DÉSIGNATION DES ESPÈCES.	HABITAT.	CARACTÈRES I		
		SUR PLAQUES.	SUR GÉLATINE.	SUR GÉLOSE.
B. coli communis, p. 745	Intestin de l'homme et des animaux. Eau et terre.	Petits îlots transparents ou presque opaques, à centre un peu jaunâtre, à bords sinueux.	Ne liquéfie pas. Culture blanchâtre un peu transparente.	Culture blanc opaque.
B. coprogenes fœtidus, p. 847	Intestin des porcs.	Mince couche grisâtre, presque transparente.	Ne liquéfie pas; la culture dégage une odeur putride.	»
B. crassus sputigenus, p. 845	Salive et enduit lingual.	Colonies grisâtres, bombées.	Ne liquéfie pas; culture en clou.	»
B. de la diarrhée verte des nourrissons, p. 789	Intestin dans la diarrhée verte infantile.	Petites colonies verdâtres, granuleuses.	Ne liquéfie pas; culture verdâtre.	Culture verdâ
B. diphteriæ, p. 574	Fausses membranes diphtéritiques.	Petites colonies blanchâtres, ne liquéfiant pas.	Ne liquéfie pas. Culture blanche minime.	Taches blanc plus épaisses centre.
B. distortus, p. 962	Caséine en fermentation.	»	Liquéfaction rapide.	Bande gris b châtre brillante.
B. de la dysenterie, p. 785	Selles des dysentériques.	Petites taches claires, devenant jaunâtres, à centre plus sombre. Elles deviennent blanchâtres plus tard.	Ne liquéfie pas.	»
B. enteriditis, p. 779	Viande malade et organisme.	Petites colonies rondes, grisâtres, transparentes, ne liquéfiant pas.	Colonie blanche, puis pellicule grise ridée.	Culture gris nâtre recouv toute la surfac 24 heures.
B. erythrosporus, p. 939	Air.	Colonies blanchâtres plissées à centre brun.	Ne liquéfie pas. Culture blanchâtre; la gelée se teint en vert.	»
B. ferrugineus, p. 930	Eau.	Colonies brunâtres liquéfiant rapidement avec dépôt ocre.	Colonies très liquéfiantes avec dépôt ocre. Coloration brunâtre.	Épaisse co couleur rouille.
B. figurans, p. 975	Air.	Ilots blanchâtres, émettant de fins prolongements droits ou courbés.	Ne liquéfie pas. Nombreux filaments blanchâtres dans la gelée.	De la strie diane partent nombreux filan radiaires.
B. filiformis (*Tyrothrix filiformis*), p. 961	Caséine en fermentation.	»	Liquéfaction rapide.	»
B. Fitzianus, p. 956	Air.	Colonies jaunâtres, à centre plus sombre; celles de la surface sont hyalines.	Ne liquéfie pas.	Culture bl muqueuse.
B. flavus, p. 929	Eau.	Disques lobés jaune brunâtre, visqueux, liquéfiants.	Liquéfie rapidement, liquide clair, membrane et dépôt jaunes.	Couche jaun queuse.
B. fluorescens liquefaciens, p. 923	Eau et air.	Colonies grisâtres qui liquéfient rapidement.	Liquéfaction rapide. Le liquide se colore en vert.	Colonie muq gris jaunâtre.

des principales espèces du genre *BACILLUS*.

CULTURES.		CARACTÈRES DES CELLULES.	INFLUENCE DE L'OXYGÈNE ET DE LA CHALEUR.	ACTION PHYSIOLOGIQUE.	OBSERVATIONS PARTICULIÈRES.
SUR POMME DE TERRE.	SUR BOUILLON.				
Couche épaisse, jaune-bistre ou un peu verdâtre.	Trouble rapide, souvent des bulles de gaz.	Bâtonnets de 2 μ à 3 μ sur 0,5 à 0,6 μ, peu mobiles.	Anaérobie facultatif.	Pathogène.	Se décolore par la méthode de Gram; fait fermenter les sucres. Coagule rapidement le lait.
»	»	Bâtonnets de 4 à 5 μ, immobiles.	»	Effets pathogènes peu marqués.	»
Couche grisâtre, épaisse.	»	Courts bâtonnets à extrémités arrondies, munis d'une capsule.	»	Pathogène.	»
Culture verte qui couvre la surface.	Liquide trouble; sédiment verdâtre.	Bâtonnets mesurant en moyenne 2 à 4 μ sur 0,75 μ à 1 μ, mobiles.	»	Pathogène.	Odeur fade des cultures.
Pas de culture apparente.	Le liquide trouble dépose de petits grumeaux qui se fixent aux parois du vase.	Bâtonnets immobiles de 2,5 à 3 μ sur 0,7 μ.	»	Pathogène.	»
»	Le liquide trouble gagne très vite une réaction alcaline.	Bâtonnets mobiles de 6 à 8 μ sur 0,9 μ.	Aérobie. Les bâtonnets meurent à 90°-95°, les spores à 100°-105°.	Agent de la fermentation des albuminoïdes.	»
Membrane jaunâtre sèche.	»	Courts bâtonnets peu mobiles.	»	Pathogène.	»
Culture gris jaunâtre, humide, brillante.	»	»	»	»	»
Couche rougeâtre, puis brune.	A la surface, petites écailles blanches à centre rougeâtre.	Minces bâtonnets mobiles, croissant souvent en filaments; spore d'un rouge sale.	»	Saprophyte.	»
Épaisse colonie couleur rouille.	Trouble simple.	Bâtonnets mobiles, de 1,5 à 2,2 μ sur 0,5 à 0,8 μ.	»	Saprophyte.	»
»	»	»	Aérobie.	Saprophyte.	»
Pellicule épaisse blanche, puis jaunâtre.	Pellicule épaisse blanche, veloutée; liquide trouble.	Bâtonnets de 2 μ sur 0,8 μ, lentement mobiles.	Aérobie. Les bâtonnets supportent 100°, les spores 110°.	Agent de la fermentation des albuminoïdes.	»
»	»	Bâtonnets mobiles; spores ovoïdes, de même largeur.	»	»	»
»	»	Bâtonnets immobiles de 1,8 μ à 2 μ sur 0,45 μ.	»	Saprophyte.	»
Couche jaune sale, luisante.	Trouble rapide; belle fluorescence verte.	Courts bâtonnets de 1,5 μ sur 0,4 μ, mobiles.	»	Saprophyte.	»

Tableau résumant les caractères les plus importants

DÉSIGNATION DES ESPÈCES.	HABITAT.	CARACTÈRES DES		
		SUR PLAQUES.	SUR GÉLATINE.	SUR GÉLOSE.
B. fluorescens putridus, p. 926.......	Air et eau.	Pellicules hyalines à bords sinueux, à surface tourmentée, entourée d'une auréole verdâtre.	Culture presque transparente ne liquéfiant pas.	Couche muqueuse grisâtre, pâteuse.
B. Friedlaenderi, p. 771........ ...	Organisme. Eau. Terre.	Petites colonies blanchâtres, muqueuses, ne liquéfiant pas.	Culture en clou, blanchâtres. Ne liquéfie pas.	Bande muqueuse blanc jaunâtre.
B. geniculatus (*Tyrothrix geniculatus*), p. 962....................	Caséine en fermentation.	»	Liquéfaction lente.	»
B. indicus, p. 872..................	Estomac d'un singe.	Petites colonies jaunâtres, liquéfiant rapidement.	Liquéfie très vite; la partie supérieure du liquide se colore en rouge.	Bande rouge-brique.
B. de l'influenza, p. 839...........	Organisme malade.	»	»	Se cultive sur gélose ou sang.
B. janthinus, p. 920................	Eau.	Colonies hyalines, à bords sinueux, ne liquéfiant que très tardivement.	Culture blanche ou violacée, ne liquéfiant souvent que fort tard.	Bande blanche devenant violette.
B. lacticus, p. 944..................	Air.	Petites colonies d'un blanc grisâtre, porcelanées.	Ne liquéfie pas; culture grisâtre, luisante.	»
B. lactis aerogenes, p. 768..........	Intestin de l'homme et des animaux nourris de lait.	Disques opaques, d'un blanc porcelané.	Ne liquéfie pas; culture blanche en clou; développement de bulles gazeuses.	Couche blanche, brillante; développe des gaz, qui brisent la gelée.
B. lactis erythrogenes, p. 939.......	Lait rouge.	»	Culture jaune; le milieu prend une teinte rose.	»
B. lepræ, p. 557....................	Tissus lépreux.	Taches floconneuses, grisâtres, sur plaque de gélose glycérinée.	»	Colonies isolées ou bande grisâtres.
B. liodermos, p. 996................	Air.	»	Liquéfie.	»
B. luteus, p. 928....................	Air.	Disque jaune d'or, ne liquéfiant pas.	Membrane plissée jaune d'or, ne liquéfiant pas.	Culture jaune, épaisse.
B. mallei, p. 564...................	Organisme morveux.	»	»	Large bande d'un blanc mat, surtout sur gélose glycérinée.
B. megaterium, p. 985..............	Air.	»	Liquéfie vite.	Culture blanche.
B. melanosporus, p. 940............	Air.	»	»	»
B. mesentericus fuscus, p. 983.......	Air, terre, eau.	Petites colonies jaunâtres granuleuses, liquéfiant très vite.	Liquéfie.	Couche visqueuse, café au lait.

des principales espèces du genre *BACILLUS*.

CULTURES. SUR POMME DE TERRE.	CULTURES. SUR BOUILLON.	CARACTÈRES DES CELLULES.	INFLUENCE DE L'OXYGÈNE ET DE LA CHALEUR.	ACTION PHYSIOLOGIQUE.	OBSERVATIONS PARTICULIÈRES.
Mince glaçure luisante.	Liquide trouble, verdâtre.	Bâtonnets mobiles, de 2 μ à 2,2 μ sur 0,45 μ.	»	Saprophyte.	»
Culture épaisse blanc jaunâtre.	Trouble rapide.	Bâtonnets immobiles de 1 à 3 μ, souvent encapsulés.	Anaérobie facultatif.	Pathogène.	Coagule le lait.
Revêtement grisâtre.	Liquide limpide rempli de filaments flottants.	Filaments ondulés ou courbés, de 1 μ de large et presque 10 μ de long.	Les cellules meurent à 80°, les spores à 105°.	Fermentation des albuminoïdes.	»
Couche épaisse de nuance vermillon.	»	Très courts bâtonnets à extrémités arrondies.	»	Pathogène.	Pigment soluble dans l'alcool, donnant une solution rouge-brique.
»	»	Bâtonnets très petits de 0,7 à 1 μ sur 0,2 à 0,5 μ.	»	Pathogène.	Se décolore par la méthode de Gram.
Couche brunâtre.	»	Bâtonnets mobiles de 1 μ à 2 μ sur 0,6 μ.	»	Saprophyte.	Pigment soluble dans l'alcool.
»	»	Courts bâtonnets immobiles, de 1,7 μ sur 0,6 μ.	Aérobie.	Agent de la fermentation lactique des sucres.	Coagule le lait de 15 à 24 heures à 30°.
Colonies blanches isolées ou couche crémeuse de même nuance.	»	Bâtonnets courts et épais de 1 à 2 μ sur 0,5 à 1 μ, immobiles.	Anaérobie facultatif.	Pathogène.	Fait fermenter les sucres; coagule rapidement le lait.
»	»	Courts bâtonnets immobiles.	»	»	Dans le lait, précipite la caséine et colore le sérum en rouge.
»	»	Bâtonnets de 5 à 6 μ de long et moins de 1 μ de large.	La croissance ne se fait très bien que vers 37°.	Pathogène.	Résiste à la décoloration par les acides minéraux.
Revêtement transparent, visqueux, qui devient plissé.	»	Courts bâtonnets très mobiles.	»	Saprophyte.	»
»	»	Bâtonnets immobiles de 2,8 μ sur 1,5 μ, spores ovoïdes.	»	Saprophyte.	Pigment soluble dans l'alcool.
Couche mince, jaunâtre ambrée, puis opaque brun rouge.	Flocons blanchâtres.	Bâtonnets mobiles de 2 à 3 μ sur 0,4 à 1,4 μ.	Aérobie. Ne se développe pas au-dessous de 20°.	Pathogène.	»
Culture blanchâtre.		Bâtonnets mobiles de 10 à 15 μ sur 2,5 μ.	»	Saprophyte.	Les bâtonnets se segmentent en articles courts qui donnent chacun une spore.
Fine pellicule ridée, d'un gris sale, puis noire. Le substratum se colore en noir.	»	»	»	»	»
Peau brune sèche, ridée.	»	Bâtonnets mobiles de 1,2 μ à 2 μ sur 0,9 μ.	Aérobie.	Saprophyte.	»

Tableau résumant les caractères les plus importants

DÉSIGNATION DES ESPÈCES.	HABITAT.	CARACTÈRES DES		
		SUR PLAQUES.	SUR GÉLATINE.	SUR GÉLOSE.
B. mesentericus niger, p. 940	Air, eau.	Colonies grisâtres, à prolongements onduleux, liquéfiant rapidement.	Liquéfaction rapide.	Pellicule jaune brunâtre plissée.
B. mesentericus ruber, p. 984	Air, terre, eau.	Petites taches circulaires, granuleuses. Liquéfiant.	Liquéfaction rapide.	Pellicule plissée, légèrement rosée.
B. mesentericus vulgatus, p. 981	Air, terre, eau.	Petites colonies jaunâtres, à centre sombre, entourées de courts filaments radiaires, liquéfiant vite.	Liquéfie.	Pellicule grisâtre qui se ride.
B. mirabilis (*Proteus mirabilis*), p. 974.	Putréfaction de substances animales.	Colonies émettant des prolongements tortueux.	Liquéfie rapidement, mais seulement en présence d'oxygène.	»
B. murisepticus, p. 825	Liquides putréfiés.	Petites colonies floconneuses, blanchâtres.	Ne liquéfie pas. Filaments très fins s'irradiant dans la gelée.	Colonies rondes isolées d'un blanc jaunâtre.
B. mycoides, p. 1001	Terre.	Petites colonies ramifiées, semblables à un mycélium de Moisissure.	Liquéfie vite.	»
B. mycoides roseus, p. 1002	Terre.	Colonies filamenteuses, liquéfiant rapidement.	Liquéfaction rapide.	»
B. oxytocus perniciosus, p. 850	Vieux lait caillé.	Colonies circulaires, grisâtres, proéminentes.	Ne liquéfie pas la gélatine ; culture grisâtre.	»
B. de la peste bubonique, p. 828	Organisme malade.	Colonies semi-transparentes, non liquéfiantes.	Culture transparente, non liquéfiante.	Colonie blanchâtre.
B. de la peste porcine, p. 813	Porcs malades.	»	Granulations blanc jaunâtre dans le canal de la piqûre.	Bande opaque d'un blanc gris.
B. phosphorescens, p. 993	Eau de mer, viandes et animaux phosphorescents.	Colonies brunâtres liquéfiant la gélatine.	Dépression cupuliforme, puis liquéfaction.	Bande grisâtre.
B. de la pneumonie contagieuse du cobaye, p. 844	Cobayes infectés.	Petits disques jaunâtres non liquéfiants.	Petite colonie transparente, jaunâtre, non liquéfiante.	Bande transparente, un peu bleuâtre.
B. de la pneumonie-entérite du porc, p. 809	Porcs malades.	»	Ne liquéfie pas. Culture mince blanchâtre.	Tache laiteuse avec rebords découpés.
B. pneumonicus agilis, p. 846	Pneumonie chez le lapin.	Colonies granuleuses entourées de filaments radiaires.	Liquéfie vite. Sédiment épais.	»
B. polychromogenes, p. 912	Eau.	Colonies liquéfiantes avec fluorescence verte.	Liquéfie. La gelée se colore en vert.	Bande grisâtre bleutée, la gelée se colore en violet.
B. polymyxa, p. 1004	Air.	»	»	»
B. prodigiosus, p. 35	Air, eau, terre.	Petits disques gris rosé, liquéfiant rapidement.	Liquéfaction rapide, dépôt floconneux rosé ou rouge.	Large bande rouge-carmin.

des principales espèces du genre *BACILLUS*.

CULTURES. SUR POMME DE TERRE.	SUR BOUILLON.	CARACTÈRES DES CELLULES.	INFLUENCE DE L'OXYGÈNE ET DE LA CHALEUR.	ACTION PHYSIOLOGIQUE.	OBSERVATIONS PARTICULIÈRES.
Couche humide, plissée, brunâtre, puis noirâtre. Le substratum se colore en noir.	Voile plissé, liquide clair.	Bâtonnets mobiles de 2,8 à 3,6 μ sur 0,8 μ.	Aérobie.	Saprophyte.	Pigment noir insoluble dans tous les réactifs.
Culture blanc rosé qui se plisse.	Voile assez épais; le liquide clair devient brun.	Bâtonnets peu mobiles, de 2,2 μ sur 0,8 μ.	Aérobie.	Saprophyte.	»
Pellicule grisâtre, à bords festonnés, très visqueuse.	Voile souvent épais, ridé, accolé; liquide clair.	Bâtonnets mobiles de 1,2 μ à 2 μ sur 0,9 μ.	Aérobie.	Saprophyte.	»
»	»	Bâtonnets mobiles de 2 à 3 μ sur 0,6 μ.	Aérobie.	Agent de putréfaction.	»
»	Trouble peu marqué; voile très fin.	Bâtonnets immobiles, de 0,8 μ à 1 μ sur 0,1 à 0,2 μ.	»	Pathogène.	Tue les souris de maison et respecte les souris de champs.
Bande blanchâtre muqueuse.	»	»	»	Saprophyte.	»
»	Voile rougeâtre, dépôt rougeâtre.	Bâtonnets semblables à ceux du *B. anthracis*.	Aérobie.	Saprophyte.	Pigment rose.
»	»	Bâtonnets courts et épais.	»	Pathogène.	»
Développement très lent, colonie blanchâtre.	Grumeaux dans le liquide.	Bâtonnets de 1 μ à 2 μ sur 1 μ. Immobiles.	»	Pathogène.	Se décolore par la méthode de Gram.
»	Trouble en 24 heures.	»	»	»	Les poulets et les lapins sont réfractaires.
Culture blanche mince.	Trouble et mince voile à la surface.	Bâtonnets très mobiles de 1,15 μ à 1,75 μ sur 0,45.	Aérobie.	Photogène.	La lumière est très faible au-dessous de 20° et a totalement disparu vers 10°.
Pellicule jaune brunâtre.	Trouble uniforme.	Bâtonnets de 1 à 2 μ sur 0,4 à 0,6 μ.	»	Pathogène.	»
Couche grisâtre épaisse.	»	Bâtonnets immobiles de 1 à 2 μ sur 0,3 μ.	»	Pathogène.	»
Couche épaisse un peu rougeâtre.	»	»	»	Pathogène.	»
Culture grise ou jaunâtre; le milieu se colore en bleu-indigo.	Trouble.	Bacille court, lentement mobile.	Aérobie.	Saprophyte.	»
Masses gélatineuses, de consistance presque cartilagineuse.	Épaisse membrane crémeuse à la surface.	»	»	Saprophyte.	»
Couche rosée, puis rouge foncé.	Trouble uniforme.	Bâtonnets très courts, de 0,5 à 1 μ, souvent comme des coccus.	Aérobie.	Saprophyte.	Pigment rose.

Tableau résumant les caractères les plus importants

DÉSIGNATION DES ESPÈCES.	HABITAT.	CARACTÈRES DES		
		SUR PLAQUES.	SUR GÉLATINE.	SUR GÉLOSE.
B. de la psittacose, p. 777	Organismes malades.	Colonies transparentes, blanchâtres, non liquéfiantes.	Colonie blanchâtre, non liquéfiante.	Culture blanche.
B. putrificus coli, p. 966	Contenu intestinal et substances en putréfaction.	»	Colonies liquéfiantes, dégageant du gaz.	Trouble nuageux; dégagement de gaz.
B. pyocyaneus, p. 852	Pus bleu.	Petites colonies rondes, jaunâtres, granuleuses. La gelée devient verdâtre.	Liquéfie; le liquide devient verdâtre.	Couche muqueuse, grisâtre, nacrée.
B. pyogenes fœtidus, p. 765	Pus d'abcès fétides.	Taches grises, presque transparentes aux bords.	Couche muqueuse grisâtre, transparente.	Bande grisâtre.
B. radicosus, p. 1002	Eaux.	Nuages blanchâtres formés de fins filaments enchevêtrés. Liquéfie.	Filaments très ténus dans la piqûre. Liquéfaction rapide.	Culture blanche, épaisse et plissée.
B. du rhumatisme, p. 866	Organisme malade.	»	»	Mince culture blanche et dégagement de gaz.
B. rosaceus metalloides, p. 935	Eaux.	Colonies grisâtres devenant rouges, ne liquéfiant pas.	Culture rouge à reflets métalliques. Ne liquéfie pas.	Colonie rouge.
B. rouge de Kiel, p. 934	Eaux.	Colonies blanchâtres qui deviennent rouges à l'air. Liquéfient lentement.	Tache rouge-sang à la surface et colonies blanches dans la piqûre. Liquéfaction lente.	Colonie rouge vif avec reflets métalliques.
B. rouge de Lustig, p. 936	Eaux.	Points grisâtres à centre rouge. Liquéfient.	Fort entonnoir de liquéfaction à liquide rouge foncé.	Culture rapide, semblable à de la cire à cacheter rouge.
B. du rouget du porc, p. 820	Porcs malades du rouget.	Petites colonies floconneuses.	Ne liquéfie pas. Trouble floconneux autour de la piqûre.	Petites colonies blanchâtres.
B. ruber, p. 936	Air.	»	»	»
B scaber (*Tyrothrix scaber*), p. 963	Caséine fermentée.	»	Liquéfaction lente.	»
B. de la septicémie gangreneuse de la grenouille, p. 873	Sang des grenouilles atteintes de cette affection.	Petites colonies à centre granuleux entouré d'un anneau floconneux. Liquéfiant.	Liquéfient très vite.	Large bande blanc grisâtre.
B. septicus, p. 641	Terre et matières en décomposition.	»	Liquéfie la gélatine.	Colonies nuageuses ramifiées.
B. septicus agrigenus, p. 851	Terre.	Disques granuleux, brunâtres.	Ne liquéfie pas. Mince culture.	»
B. septicus putidus, p. 865	Liquide céphalo-rachidien dans un cas de méningite.	Petites colonies circulaires.	Liquéfie vite.	Culture épaisse, blanche, crémeuse.
B. du smegma, p. 878	Beaucoup de sécrétions.	»	»	Se cultive sur gélose ou sang.
B. stolonatus, p. 1003	Eaux.	Colonies blanchâtres ou brunâtres, ne liquéfiant pas; la gélatine se colore en brun autour.	»	D'une partie centrale partent des tractus rameux produisant de fins filaments onduleux.

des principales espèces du genre *BACILLUS.*

CULTURES. SUR POMME DE TERRE.	CULTURES. SUR BOUILLON.	CARACTÈRES DES CELLULES.	INFLUENCE DE L'OXYGÈNE ET DE LA CHALEUR.	ACTION PHYSIOLOGIQUE.	OBSERVATIONS PARTICULIÈRES.
Culture épaisse brunâtre.	Trouble uniforme.	Bâtonnets comme ceux du *Colibacille.*	»	Pathogène.	Se décolore par la méthode de Gram.
»	»	Bâtonnets de 5 à 6 μ, très mobiles.	Anaérobie.	Saprophyte.	Reste coloré par la méthode de Gram. Attaque énergiquement les albuminoïdes.
Couche muqueuse brunâtre; le milieu se colore en vert.	Trouble et verdâtre; pellicule sèche cassante.	Courts bâtonnets très mobiles, de 1 à 1,5 μ sur 0,6 μ.	Aérobie ou anaérobie facultatif.	Pathogène.	Produit la *pyocyanine*, bleue, cristallisable.
Culture abondante, brun clair.	»	Bâtonnets de 1,45 μ sur 0,58 μ, lentement mobiles.	»	Pathogène.	Odeur fétide des cultures, n'est pas à différencier du *Colibacille.*
Culture grisâtre, muqueuse, épaisse.	Mince voile; liquide peu trouble.	Bâtonnets peu mobiles, de 2 μ sur 1 μ. Beaucoup ont des spores ovales.	Aérobie.	Saprophyte.	»
Presque rien.	Trouble uniforme. Bulles de gaz.	Bâtonnets de 6 μ sur 1 μ.	»	»	Reste coloré par la méthode de Gram.
Couche épaisse, très colorée, à reflets métalliques.	Développement abondant; pas de coloration.	Bâtonnets immobiles de 1,5 μ sur 0,7 μ.	Aérobie.	Saprophyte.	»
Colonie rouge pourpre violacé, recouvrant toute la surface en un jour.	Trouble en 24 heures et coloration rosee du liquide.	Bâtonnets de 3 à 5 μ sur 0,8 μ, médiocrement mobiles.	Aérobie.	Saprophyte.	»
Culture rapide qui reste grisâtre.	Trouble rapide; pas de coloration.	Bâtonnets de 2 à 3 μ de long, très mobiles.	Aérobie.	Saprophyte.	»
Rien ou très minimes cultures.	Trouble rapide; dépôt léger.	Bâtonnets de 0,6 à 1,8 μ sur 0,3 μ.	»	Pathogène.	»
»	»	Bâtonnets de 6 μ à 8 μ sur 1 μ, très mobiles.	»	»	Taches rouge-brique sur le riz cuit.
Cultures muqueuses, d'un blanc jaunâtre.	Pellicule fragile, adhérente au vase.	Courts bâtonnets de 2 μ sur 1,1 μ, à mouvements lents.	Aérobie.	Ferment des albuminoïdes.	»
Culture épaisse jaune-bistre.	Trouble rapide; dépôt floconneux.	Bâtonnets très mobiles, de 1,8 μ sur 0,6 à 0,8 μ.	Aérobie.	Pathogène.	Odeur de tabac mouillé des cultures.
La culture non apparente pénètre dans la substance.	Trouble rapide; légère odeur fétide.	Bâtonnets mobiles de 3 μ sur 1 μ. Spores plus grosses à une extrémité.	Anaérobie.	Pathogène.	»
»	»	Courts bâtonnets.	Aérobie.	Pathogène.	«
Culture gris jaunâtre, terne, sèche.	Trouble. Le liquide devient gris jaunâtre.	Bacilles ovalaires de 1 μ de long, très mobiles.	Anaérobie facultatif.	Pathogène pour le lapin.	Se décolore par le Gram.
»	»	Comme le *Bacille de la tuberculose.*	»	Ne paraît pas être pathogène.	Reste coloré par la méthode d'Ehrlich.
Culture d'un blanc sale.	»	Bâtonnets très mobiles, deux fois et demie aussi longs que larges.	Aérobie.	Saprophyte.	»

Tableau résumant les caractères les plus importants

DÉSIGNATION DES ESPÈCES.	HABITAT.	CARACTÈRES DES		
		SUR PLAQUES.	SUR GÉLATINE.	SUR GÉLOSE.
B. subtilis, p. 978	Air et eau.	Petites colonies hyalines, qui liquéfient.	Liquéfie.	Couche blanc grisâtre, se ridant.
B. syncyanus, p. 907	Lait bleu.	Petites colonies blanchâtres, qui s'étalent en gouttelettes muqueuses, sans liquéfier la gelée.	Culture blanchâtre ne liquéfiant pas.	Couche grise; la partie supérieure du milieu se colore en brun.
B. synxanthus, p. 929	Lait jaune.	»	»	»
B. tenuis (*Tyrothrix tenuis*), p. 959	Fermentation de la caséine.	»	»	»
B. termo, p. 976	Air et eau.	Petites colonies blanchâtres, liquéfiant rapidement.	Liquéfaction rapide.	Couche muqueuse grisâtre presque fluide.
B. tetani, p. 654	Terre, poussière, débris, etc.	Taches blanchâtres nuageuses, plus opaques au centre. Liquéfient lentement.	Tractus nuageux d'où partent de fins prolongements radiaires.	Colonies blanches, floconneuses.
B. tuberculosis, p. 500	Organisme dans la tuberculose.	»	»	Culture blanche, épaisse, lisse ou mamelonnée, sur gélose glycérinée.
B. typhi murium, p. 827	Septicémie de bien des rongeurs.	Colonies grisâtres transparentes.	Ne liquéfie pas.	Culture muqueuse blanc grisâtre.
B. typhosus, p. 677	Organisme dans la fièvre typhoïde.	Petites colonies hyalines, minces, à bords sinueux, à surface souvent tourmentée.	Ne liquéfie pas, culture blanchâtre parfois un peu transparente.	Culture blanche épaisse.
B. ureæ, p. 987	Air.	»	»	»
B. urocephalus (*Tyrothrix urocephalum*), p. 964	Matières animales putréfiées.	»	Liquéfaction lente.	»
B. violaceus, p. 918	Eau et terre.	Petites taches hyalines à bords sinueux, à surface tourmentée, liquéfiant la gélatine.	Liquéfie très vite; liquide trouble, incolore.	Culture blanche devenant violet noir.
B. virgula (*Tyrothrix virgula*), p. 964	Caséine fermentée.	»	»	»
B. vulgaris (*Proteus vulgaris*), p. 969	Putréfactions de substances animales. Eaux. Terre.	Colonies émettant de longs prolongements tortueux, qui peuvent s'en séparer complètement.	Liquéfie vite.	Couche muqueuse gris blanchâtre.
B. Zenkeri (*Proteus Zenkeri*), p. 975	Putréfactions.	Petites colonies aplaties d'un gris blanchâtre.	Ne liquéfie pas; culture blanchâtre.	»
B. Zopfii, p. 967	Contenu intestinal de poulets, sang de canards. Eaux. Terre.	Petits flocons blanchâtres ressemblant à un jeune mycélium de Moisissure.	Nombreux filaments blanchâtres dans la gelée. La gélatine se ramollit puis se liquéfie lentement.	Filaments blanchâtres envahissant toute la gelée et la rendant opaque.

des principales espèces du genre *BACILLUS*.

CULTURES. SUR POMME DE TERRE.	CULTURES. SUR BOUILLON.	CARACTÈRES DES CELLULES.	INFLUENCE DE L'OXYGÈNE ET DE LA CHALEUR.	ACTION PHYSIOLOGIQUE.	OBSERVATIONS PARTICULIÈRES.
Culture épaisse blanche, un peu jaune.	Voile blanc sec, ridé.	Bâtonnets mobiles de 4 à 5,5 μ sur 0,7 à 0,8 μ. Spores elliptiques.	Aérobie.	Saprophyte.	»
Taches jaunâtres : la surface du tubercule se colore en bleu.	Teinte bleuâtre ou livide, dans les liqueurs minérales.	Bâtonnets lentement mobiles, de 2 à 4 μ de long sur 0,5 μ. Spores un peu plus grosses que les bâtonnets.	Aérobie.	Sécrétion de pigment bleu. Aucun effet pathogène.	Le lait se colore en bleu dans sa partie supérieure.
»	»	Courts bâtonnets très mobiles.	»	»	Le lait est rapidement teint en jaune, la caséine est précipitée, puis dissoute.
»	Flocons blanchâtres au bout de quelques heures.	Bâtonnets grêles de 3 μ sur 0,6 μ.	Aérobie. Les bâtonnets peuvent supporter 100°, les spores 115°.	Agent de la fermentation des albuminoïdes.	»
»	Trouble et mince voile très fragile.	Bâtonnets mobiles de 2 à 3 μ sur 0,6 à 1,8 μ.	Aérobie.	Saprophyte.	»
Couche humide, luisante, minime.	Trouble rapide ; le liquide dégage de fines bulles de gaz.	Bâtonnets de 1 μ sur 0,4 μ formant des spores ovales.	Anaérobie.	Pathogène.	»
Culture épaisse et plissée, humide, ou sèche, scarieuse.	Voile plissé épais à 37° sur le bouillon glycériné qui reste clair.	Bâtonnets de 1,5 μ à 3,5 μ sur 0,4 μ.	Ne croît que difficilement au-dessous de 30°.	Pathogène.	Résiste longtemps à la décoloration par les acides minéraux.
Culture grisâtre.	Trouble.	Bâtonnets mobiles.	Aérobie.	Pathogène.	Conserve le Gram.
Très mince enduit visqueux, parfois difficile à voir au début.	Trouble rapide.	Bâtonnets mobiles de 2 à 3 μ sur 0,7 à 0,9 μ.	Anaérobie facultatif.	Pathogène.	Se décolore par la méthode de Gram. Ne fait pas fermenter le lactose. Ne coagule pas le lait.
»	Trouble rapide.	Minces bâtonnets, de moins de 1 μ de largeur ; spores elliptiques.	Anaérobie facultatif.	Fermentation ammoniacale de l'urée.	»
Culture blanc jaunâtre.	»	Bâtonnets de 3 μ sur 1 μ, très mobiles.	Anaérobie facultatif.	Ferment des albuminoïdes.	La spore se produit à une extrémité renflée.
Culture brunâtre.	Trouble rapide.	Bâtonnets de 2 à 3 μ sur 0,45 μ. Spores arrondies.	»	Saprophyte.	Pigment soluble dans l'alcool.
	»	Bâtonnets de 2 μ sur 0,5 μ, immobiles.	Aérobie.	Ferment des albuminoïdes.	La spore se produit à une extrémité renflée.
»	Végétation abondante accompagnée de gaz fétides.	Bâtonnets mobiles de 1,25 μ sur 0,8 μ.	Aérobie.	Agent de putréfaction.	»
»	Les cultures ont une forte odeur putride.	Bâtonnets mobiles de 1,6 μ sur 0,4 μ.	Aérobie.	Agent de putréfaction.	»
»	Liquide trouble, voile mince et fragile.	Bâtonnets très mobiles, de 2 à 5 μ sur 0,7 à 1 μ. Spores ovoïdes de même largeur.	Aérobie, craint la dessiccation.	Paraît inoffensif.	»

APPENDICE DU GENRE *BACILLUS*

1er GENRE. — ASCOBACTERIUM

Le genre *Ascobacterium* a été créé par Babès (1). Les éléments en bâtonnets, véritables Bacilles, sont réunis, en nombre plus ou moins considérable, dans une grande capsule ovalaire, gélatineuse ou muqueuse. Il y a peut-être des rapports à établir entre ce type et ceux décrits sous le nom d'*Ascococcus* (p. 476). Une seule espèce est assez bien connue.

ASCOBACTERIUM LUTEUM Babès.

Atlas de microbiologie, pl. xxxi.

Babès l'a rencontrée communément dans l'air de son laboratoire, à Budapest, et dans une eau de rivière. G. Thiry l'a isolée, dans mon laboratoire, du jetage d'un cheval morveux, avec le *Bacille de la morve*; le fait est intéressant à connaître, surtout à cause de certaines similitudes d'aspect que présentent les cultures sur pomme de terre de ces deux espèces.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Ce sont des bâtonnets droits ou un peu courbés, mesurant de 2 à 3 μ de long sur 0,4 μ de large, qu'on rencontre, isolés exclusivement dans certaines cultures ou à la périphérie seulement dans d'autres, ou réunis en amas ovalaires entourés d'une capsule unique bien nette, formant ainsi de petites masses oblongues, souvent en massues, atteignant 20 μ et plus de longueur. Les Bacilles libres et isolés peuvent présenter de petites capsules.

Cultures. — Sur *plaques de gélatine*, les colonies sont saillantes, jaunâtres, un peu transparentes. Elles liquéfient lentement la gélatine. Elles montrent, à la périphérie, des Bacilles isolés, et au centre des masses bacillaires encapsulées.

Sur *gélatine* en piqûre, le développement est très rapide surtout à la surface de la gelée, moindre dans le canal. Il se forme, à la surface, une colonie jaune d'or, transparente, plus ou moins mamelonnée ou étalée et déchiquetée. La gélatine se creuse et se liquéfie lentement. Le liquide formé est trouble.

Sur *gélose*, surtout glycérinée, il se forme très vite, le long de la strie, une colonie épaisse, transparente, de coloration un peu jaunâtre, à surface verruqueuse, présentant de petits épaississements ressemblant à de petites perles de verre; de consistance filante et visqueuse au début, elle devient plus tard plus dense, élastique. Sur gélose maltosée, le développement est encore plus abondant, la nuance est plus jaune.

Sur *pomme de terre*, la culture s'étend très vite et envahit tout le milieu. Transparente, visqueuse, au commencement, elle devient opaque, jaune, de consistance de miel; elle n'est jamais bien épaisse. Elle ne se colore jamais en brun.

(1) Cornil et Babès, Les Bactéries, 3e éd., 1890, p. 155.

Dans le *bouillon*, il se forme un voile opalin, épais, résistant, qui grimpe aux parois du vase. Ce voile, d'abord d'un blanc sale, devient ensuite jaunâtre. Au fond, se dépose un sédiment jaunâtre. Le liquide reste longtemps trouble.

Propriétés biologiques.

Rien n'est connu jusqu'ici. Les propriétés pathogènes sont encore douteuses.

L'intérêt réside surtout dans la confusion possible des cultures sur pomme de terre avec celles du *Bacille de la morve* (p. 567). Au début, elles ont en effet même transparence, même consistance et même aspect ; un peu plus tard, la coloration devient plus jaune, plus opaque, moins ambrée ; elles ont, en outre, une tendance beaucoup plus envahissante. L'étude microscopique montre en outre des caractères tout différents.

L'espèce décrite par Tommasoli (1) sous le nom d'*Ascobacillus citreus*, rencontrée sur la peau dans un cas d'eczéma, paraît être identique.

2e GENRE. — SPIRILLUM Ehrenberg.

Le genre *Spirillum* a été créé par Ehrenberg, en 1830, pour des Bactéries dont les éléments décrivent une spirale à plusieurs tours, mobile mais rigide ; les espèces spiralées à corps flexible, ondulant, formaient le genre voisin *Spirochæte*. Enfin d'autres, à éléments simplement courbés, étaient placées dans le genre *Vibrio* avec des Bacilles mobiles. Dujardin avait déjà, en 1841, réuni les deux premiers genres en un seul, estimant trop peu importants les caractères qui les distinguaient. Une étude plus approfondie a fait aussi rattacher au même type les *Vibrio* à éléments courbés. La réunion des trois ordres de formes précités est d'autant plus naturelle, qu'une même espèce peut offrir successivement les caractères pris pour génériques, suivant les conditions où elle se trouve. Certaines formes, les plus simples, ne présentent souvent qu'une courbure peu prononcée, les éléments ne décrivent qu'une faible portion de circonférence ; ce sont les formes dites *en virgule*, les *Bacilles virgules*. D'habitude, cependant, en faisant intervenir des conditions de milieu différentes, on parvient à obtenir de plus longs articles, décrivant une spire à tours nombreux. D'autres espèces ne sont connues que sous cette dernière forme ; la spirale peut être très longue, composée de nombreux tours, lâches ou serrés (fig. 316). La courbure n'est pas un caractère absolument spécial à ce genre. Nous l'avons signalée chez plusieurs Bactéries en bâtonnets ; le



Fig. 316. — *Spirillum plicatile*. 800/1.

(1) Tommasoli, Bacillen, Kokken und Hefeformen. Flora dermatologica de Unna (*Monatshefte für prakt. Dermat.* IX, 1889).

Bacille de la tuberculose, le *Bacillus butyricus* ont souvent leurs articles un peu courbés. Des espèces qui croissent en filaments présentent un aspect encore plus compliqué. Des portions de filaments ondulent, de façon à décrire une hélice irrégulière, et peuvent même se replier en boucle; c'est la forme nommée *Spiruline*. Mais il est un caractère qui servira de guide et qui permettra d'établir nettement la distinction, c'est la régularité et la constance de la forme chez les espèces à éléments typiquement courbés : en changeant un peu les conditions de milieu, on obtient avec les autres un retour au véritable aspect, lorsque cette courbure n'est pas une simple exception, n'affectant que de rares éléments parmi un beaucoup plus grand nombre d'autres parfaitement droits.

Les Bactéries du genre *Spirillum* sont assez répandues dans la nature. Le *Spirille du choléra* est au premier rang des espèces pathogènes. Des formes saprophytes se rencontrent en abondance dans les eaux stagnantes, dans les liquides en putréfaction, isolées, en voiles plus ou moins épais, ou en flocons formés par des éléments enchevêtrés et réunis par de la substance muqueuse (fig. 317). Dans les zooglées compactes, les éléments sont immobiles; dès qu'ils s'isolent, ils présentent des mouvements, tantôt peu marqués, d'oscillation ou de rotation lente autour de l'axe de la courbe, tantôt très vifs. C'est, dans ce dernier cas, une rotation rapide autour de l'axe, et, en même temps, chez les espèces de l'ancien genre *Spirochæte*, des ondulations répétées. Ces mouvements sont dus à des cils vibratiles, qui se trouvent aux extrémités des éléments, isolés ou en bouquets (Voy. p. 35).

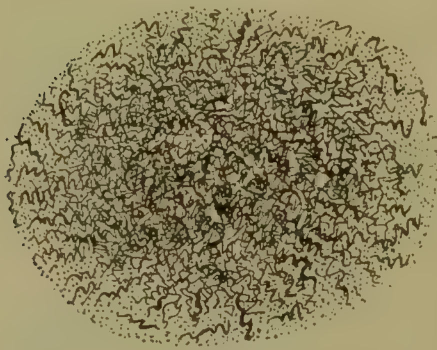


Fig. 317. — Zooglée de Spirilles.

La formation de spores est connue chez plusieurs espèces (fig. 318). Dans les formes simples, l'article produit une spore, ronde ou ovoïde, égale à lui en largeur ou d'un diamètre plus fort; il se renfle alors à l'endroit où elle se forme. Les longs *Spirilles* se segmentent au préalable, probablement toujours, et dans chacun des articles forment une spore. La germination des spores se fait de la manière habituelle; chez le *Spirillum endoparagogicum*, les spores germent lorsqu'elles sont encore contenues dans la cellule mère ; on obtient alors des fausses ramifications comme celles représentées figure 30, page 63.



Fig. 318. — Formation des spores chez des *Spirilles*.

SPIRILLUM CHOLERÆ Koch.

(*Bacille du choléra*; *Bacille virgule*; *Kommabacillus*; *Vibrion asiatique*; *Vibrion cholérique*.)

Atlas de microbiologie, pl. xxxii, xxxiii, xxxiv, xxxv.

Les travaux de Koch (1) l'ont conduit à la découverte, dans l'intestin des cholériques, de Bactéries courbes qu'il considère comme spéciales à l'affection et en rapport direct de causalité avec elle. De nombreux travaux qui les ont suivis de près, parmi lesquels on doit citer au premier rang ceux de Nicati et Rietsch (2), Van Ermenghem (3), Doyen (4), ont confirmé en tous points les résultats annoncés par Koch et mis en lumière des particularités du plus haut intérêt concernant l'étiologie, la pathogénie et la prophylaxie de ce terrible fléau.

De nouvelles recherches sont venues modifier la conception primitive de Koch, et, tout en lui donnant la sanction expérimentale qui lui manquait, ont permis de préciser les caractères du microbe découvert par lui et d'affirmer son rôle dans l'étiologie du choléra, en obligeant toutefois à une limitation moins précise de beaucoup de ses propriétés, surtout celles qui avaient été données comme différentielles. Il serait injuste de ne pas citer au premier rang les belles recherches de Metschnikoff (5).

Les *Spirilles du choléra* se rencontrent en grand nombre dans le contenu intestinal des individus morts du choléra : ils abondent surtout dans la couche blanchâtre, crémeuse, peu adhérente, qui recouvre la muqueuse de l'intestin grêle, surtout dans les cas à terminaison rapide (fig. 319). Ils sont fréquemment mélangés aux diverses espèces qui pullulent dans l'intestin, même à l'état normal; d'autres fois, ils y existent seuls, à l'exclusion complète de ces dernières; ce mucus constitue pour ainsi dire une véritable culture pure.

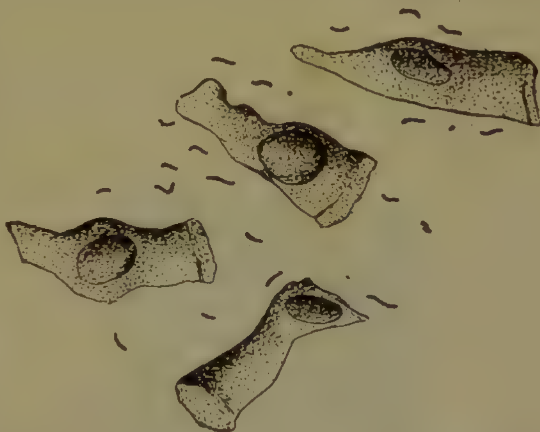


Fig. 319. — Liquide crémeux du jéjunum chez l'homme, avec des cellules épithéliales et *Spirilles du choléra* (d'après Doyen).

Pour les observer, on étale ce liquide sur une lamelle et on laisse sécher à la température ordinaire, pour éviter une déformation des éléments; on colore pendant une demi-minute dans une solution concentrée de violet de méthyle ou de fuchsine et on lave rapidement.

(1) R. Koch, Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage. Berlin, 1884.

(2) Nicati et Rietsch, Recherches sur le choléra (*Arch. de phys.*, 1885, et *Revue de Méd.*, 1885).

(3) Van Ermenghem, Recherches sur le Bacille du choléra asiatique. Bruxelles, 1885.

(4) Doyen, Recherches anatomiques et expérimentales sur le choléra épidémique (*Arch. de phys.*, 1885, p. 179).

(5) Metschnikoff, Recherches sur le choléra, 1er, 2e, 3e et 4e mémoires (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 403 et 563; VIII, 1894, p. 257 et 529).

La préparation desséchée par un courant d'air peut être montée dans le baume. Ces *Spirilles* se décolorent très facilement, aussi faut-il éviter de laver à l'alcool; traités par la méthode de Gram, ils perdent leur couleur; il est alors possible d'arriver à une double coloration qui les fasse distinguer d'autres espèces en mélange. Doyen recommande la technique suivante : Les préparations sont colorées pendant dix minutes à 40° dans un bain d'eau anilinée, additionnée de violet de méthyle, puis soumises pendant huit minutes à l'action de la solution iodo-iodurée de Gram. On les lave à l'alcool absolu et on les traite par l'essence de girofle. Elles sont de nouveau passées à l'alcool absolu, puis plongées quelques secondes dans une forte solution aqueuse de fuchsine; enfin lavées, séchées à l'air et montées. Les *Spirilles du choléra* sont colorés en rouge, les autres Bactéries en violet intense.

Ces Bactéries pénètrent facilement dans la paroi intestinale; elles s'observent fréquemment dans l'épaisseur des villosités ou dans des glandes en tubes : elles passent même dans la sous-muqueuse et peuvent se retrouver jusque dans les couches superficielles des follicules lymphatiques. On les aperçoit sur les coupes, que Doyen conseille de traiter comme il suit : Les coupes sont colorées à 45°, pendant une demi-heure, à l'aide d'une solution de sublimé à 1 p. 100, et décolorées à l'alcool absolu et l'essence de girofle. La solution d'Ehrlich, suivie de l'emploi de la méthode de Gram, ne donne pas beaucoup de bons résultats.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Ce sont de courts bâtonnets, de 1,5 μ à 3 μ de long sur 0,4 μ à 0,6 μ de large. Leur courbure varie dans d'assez grandes limites (fig. 320 et 321). Elle est très souvent peu prononcée;



Fig. 320. — *Spirilles du choléra*, de selles riziformes. 1000/1.

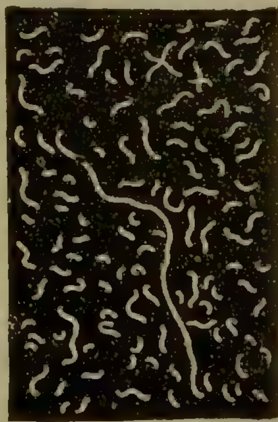


Fig. 321. — *Spirilles du choléra*, de cultures dans le bouillon. 1000/1.

l'élément peut affecter une forme rappelant celle d'une virgule, d'où le nom de *Bacille virgule*. D'autres fois, l'arc est plus incurvé, il décrit presque une demi-circonférence. Ces éléments, vus au microscope, paraissent souvent droits, parce qu'ils ne sont pas placés suivant le plan de leur courbure, mais aperçus du côté de leur concavité ou de leur convexité. Enfin on trouve, surtout dans les cultures dans les bouil-

lons, des formes en S et de longs filaments spiralés, à nombreux tours peu serrés, souvent plutôt ondulés.

Tous ces formes possèdent un mouvement rapide, qui souvent décrit une spire ; les éléments possèdent, à une extrémité, un long cil vibratile (1) (fig. 322), exceptionnellement plus. La moitié, très vive vers 30-35°, cesse presque complètement à 16 degrés.

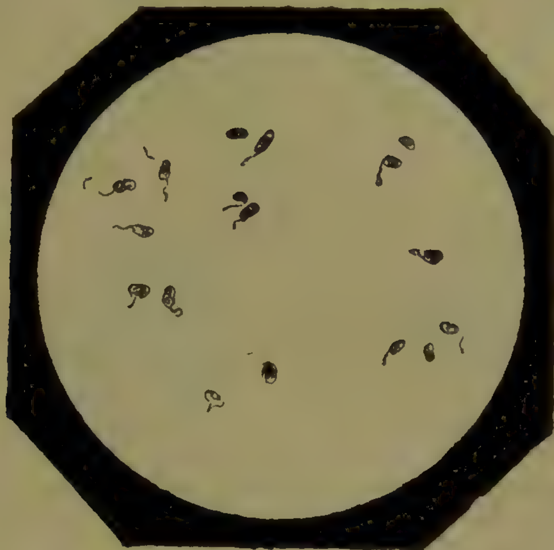


Fig. 322. — *Spirilles du choléra*, avec cils vibratiles.

Les cultures montrent fréquemment des formes d'involution nombreuses, des éléments arrondis, qu'on a pris pour des spores, d'autres tuméfiés irrégulièrement gonflés. Certains portent à une de leurs extrémités de grosses sphères de 3 μ à 4 μ, régulières ou déformées. Ce sont de semblables monstruosités qui ont été décrites comme normales, par Ferrand (2), et prises pour des organes reproducteurs.

Dowdeswell (3) a plus récemment observé, dans des cultures du *Spirille du choléra*, une série de formes bien différentes de celles que l'on regarde comme normales pour cette espèce. Elles sont, il semble, à rattacher également aux formes d'involution. Certaines cultures, provenant bien dûment de virgules et spirilles typiques, donnent des formes sphériques de 6 à 7 μ, mobiles au début et possédant un cil visible ; ces éléments sont isolés ou réunis en chaînette ou en amas de plusieurs centaines; leur protoplasma, d'abord clair, montre, après peu de temps, de nombreuses vacuoles. Elles se résolvent au bout de quelques jours, en fines granulations rondes, que cet auteur regarde comme des corps reproducteurs et qu'il nomme sporules, qui, portées dans des bouillons neufs, reproduisent des éléments semblables à ceux dont elles proviennent, ou d'autres éléments irréguliers, munis d'un ou de plusieurs prolonge-

(1) Neuhauss, Ueber die Geisseln an den Bacillen der asiastichen Cholera (*Centralbl. für Bakt.*, 1889, V). Et : Dowdeswell, Note sur les flagella du microbe du choléra (*Ann. de micr.*, 1890).

(2) Ferran, Sur l'action pathogène et prophylactique du Bacille virgule (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1885, C, p. 959).

(3) Dowdeswell, Sur quelques phases du développement du microbe du choléra (*Ann. de micr.*, II, 1890, n° 12).

ments, présentant des mouvements amiboïdes, ou encore des sortes de filaments plus ou moins longs, parfois vermiformes. Il est difficile, à l'heure présente, d'émettre une opinion ferme sur la nature et la valeur de ces modifications.

Les observateurs cités n'ont pas observé de production de spores. D'après Hüppe (1), il se formerait cependant, aux dépens des articles, de véritables éléments durables, auxquels il attribue la valeur de spores. Un bâtonnet qui va en produire devient immobile, puis se divise en deux sphères, qui restent souvent accolées, entourées d'une membrane gélatineuse épaisse. C'est surtout entre 22 et 37° que l'on peut étudier ce phénomène. Les corps sphériques ainsi produits sont des *arthrospores* immobiles, qui germent directement en donnant un bâtonnet courbe; ils possèdent une résistance un peu plus grande que les simples bâtonnets; de vieilles cultures qui en contiennent sont encore plus fertiles après un an.

Coloration. — Ce microbe se colore bien, quoique légèrement, aux couleurs d'aniline par les procédés ordinaires. La fuchsine phéniquée donne de très bons résultats, surtout employée à chaud ; il se *décolore* par la méthode de Gram.

Cultures. — Le *Spirille du choléra* est un aérobie vrai. Il ne croît pas ou seulement très peu et très lentement à l'abri de l'air; dans ces conditions, les mouvements cessent très vite et les cellules périssent, si la privation d'oxygène se prolonge.

Son optimum de température semble être vers 37° ; il se développe encore bien à 22° et commence à végéter vers 10°, mais alors très faiblement.

Les cultures s'obtiennent facilement sur les milieux habituels ; la Bactérie paraît cependant assez exigeante en substances nutritives. Elle croît très mal dans l'eau stérilisée ; en quelques jours, le liquide ensemencé a perdu son pouvoir fertilisant pour de nouvelles cultures. L'eau riche en matières organiques est plus favorable, beaucoup moins cependant pour cette espèce que pour d'autres également pathogènes, le *Bacille typhique* particulièrement, qui y végète abondamment et y conserve longtemps sa vitalité ; Nicati et Rietsch ont conservé en vie le *Spirille du choléra* pendant vingt jours et plus dans l'eau du Vieux Port de Marseille, fortement salée et chargée de matières organiques.

Les Bactéries de putréfaction paraissent s'opposer au développement du *Spirille du choléra* et parvenir même à le faire rapidement disparaître. Tout au début cependant, cette dernière espèce domine dans une culture mélangée; ce n'est qu'après un certain temps qu'elle cède le pas aux autres. D'après Schottelius (2), on trouverait dans cette particularité un précieux secours pour la constatation du *Bacille virgule*, lorsqu'il est peu abondant dans les déjections. En mélangeant des déjections avec un volume à peu près double de jus de viande stérilisé, il a remarqué qu'en douze heures, de 30° à 38°, la surface du liquide se couvrait de *Spirilles du choléra*, excessivement abondants, constituant presque une culture pure. En peu de jours, ceux-ci déclinent ; le milieu est envahi par

(1) Hüppe, Ueber die Dauerformen der sogenannten Kommabacillen (*Fortschr. der Med.*, III, 1885, n° 19).

(2) Schottelius, Zur microskopische Nachweiss von Cholerabacillen in Dejection (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1885, n° 14).

les espèces de putréfaction qui font complètement disparaître les premiers. Klebs (1) et Ceci (2) ont fait une remarque semblable avec les selles cholériques : en les conservant dans une chambre humide, on voit le *Spirille du choléra* y pulluler les deux ou trois premiers jours, puis être tout à fait étouffé par les autres espèces, passé ce laps de temps. Van Ermenghem a obtenu des résultats identiques en ensemençant des linges mouillés maintenus en étuve. Mais la véritable méthode d'isolation de cette Bactérie est celle des cultures sur plaques.

Cultures sur plaques de gélatine. — Les colonies obtenues présentent des caractères qui permettent de les reconnaître assez facilement (fig. 323). Entre vingt-quatre heures, à 10° ou 20° environ, on perçoit dans la gelée de petits points blanchâtres. Ceux qui se trouvent dans

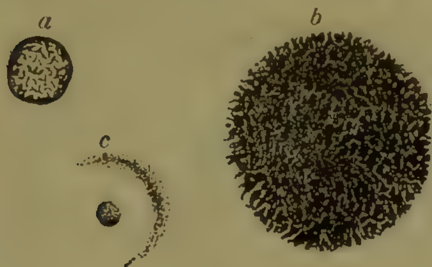


Fig. 323. — Colonies de *Spirille du choléra*, en cultures sur plaques. A gauche, colonie après 48 heures, 90/1; en bas, colonie au troisième jour située au fond d'une excavation de la gelée, 10/1 ; à droite, partie centrale d'une colonie au quatrième jour, 100/1 (d'après Van Ermenghem).



Fig. 324. — Colonie de *Spirille de Finckler et Prior* sur plaques de gélatine après 24 heures. A droite, se trouve une colonie du *Spirille du choléra* de même âge, beaucoup plus petite, 40/1 (d'après Van Ermenghem).

la couche supérieure sont un peu plus gros que ceux de la masse inférieure. A un faible grossissement, ce sont de petits disques granuleux, presque transparents, à bords un peu sinueux, que Van Ermenghem compare à des globules blancs arrondis. L'apparence granuleuse s'accentue le jour suivant, la colonie rappelle une agglomération de petites perles de verre. Au troisième jour, les bords deviennent dentelés, moins nets, parfois filamenteux, commencent à se fondre ; en même temps la liquéfaction de la gélatine devient manifeste, la colonie s'enfonce dans une cavité cupuliforme. Au quatrième jour, on distingue une partie centrale, une sorte de noyau, légèrement jaunâtre, à bords déchiquetés (fig. 323), entourée d'une zone annulaire de gélatine liquéfiée trouble. La plaque est bientôt entièrement liquéfiée ; le liquide très trouble, jaunâtre, exhale une odeur qui rappelle celle de l'urine de souris. Après trois jours, on rencontre déjà de nombreuses formes d'involution dans les colonies des cultures sur plaques.

C'est là, on peut le dire, l'aspect typique de ces colonies. Suivant la provenance du microbe, l'âge de la culture qui a fourni la semence, le temps pendant lequel elle a été entretenue artificiellement dans les laboratoires, on peut observer des variantes plus ou moins marquées

(1) Klebs, Ueber Cholera asiatica. Bâle, 1883.

(2) Klebs et Ceci, Ueber Cholera asiatica nach Beobachtungen in Genua (*Correspondenzbl. für Schweizer Aerzte*, 1884).

dans l'aspect des colonies et la production de la liquéfaction (1). La délimitation peut être plus marquée et plus persistante entre le noyau central et la zone périphérique de liquéfaction ; ce noyau peut, au contraire, se fondre plus vite, se désagréger plus complètement, d'autres fois le faire d'une façon plus homogène, plus régulière, offrant même une disposition radiée assez nette.

Les caractères de ces colonies en cultures sur plaques ne peuvent en somme être regardés comme bien particuliers et servir de base très sûre à une détermination, mais simplement donner des indications souvent précieuses.

Cultures dans la gélatine. — Dans un tube de gélatine inoculé en *piqûre*, on voit se former, vers la vingtième heure, à 20°, une petite dépression cupuliforme à la surface, à l'endroit de l'inoculation. La gelée se creuse de plus en plus, en même temps que la couche super-



Fig. 325. — Culture du *Spirillum choleræ* après vingt-quatre heures.



Fig. 326. — Culture du *Spirillum choleræ* après deux jours.



Fig. 327. — Culture du *Spirillum Finckleri* âgée de deux jours.

ficielle de l'excavation se liquéfie. Tout le long du canal se produit une culture blanchâtre trouble. Après un jour, l'aspect est celui qui est représenté figure 325. On voit à la partie supérieure une excavation bien prononcée, en forme de calotte sphérique ou ovale, au fond de laquelle se trouve un peu de liquide. Au deuxième jour (fig. 326), la culture a grandi ; l'espace vide a plus que doublé ; en regardant de côté, on a l'illusion d'une bulle d'air incluse dans la gelée, surmontant la mince culture blanche qui s'est développée dans le canal de la piqûre. La liquéfaction s'étend les jours suivants ; vers le sixième ou septième

(1) Friedrich, Vergleichende Untersuchungen über den Vibrio choleræ asiaticæ mit besonderer Berücksichtigung der diagnostischen Merkmale derselben (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, VIII, 1892, p. 87).

jour, elle a atteint les parois du tube ; les caractères des premiers jours se sont effacés. Les Bactéries fluidifient peu à peu toute la partie supérieure du tube ; sur la gélatine restée solide, on trouve une couche blanchâtre plus ou moins épaisse, renfermant un grand nombre de Bactéries. Le liquide trouble qui surmonte en renferme bien moins, elles sont plus abondantes à la surface, qui peut se recouvrir d'une mince pellicule grisâtre. La rapidité de la liquéfaction dépend de la vitalité de la culture, de la puissance nutritive du milieu et surtout de la température ; les cultures entretenues depuis longtemps dans les laboratoires liquéfient moins vite que le microbe retiré fraîchement de selles cholériques. A 16°, la liquéfaction se ralentit beaucoup, puis s'arrête. L'aspect de cette culture est assez spécial, bien qu'un certain nombre d'espèces offrent quelque chose d'analogue ; il semble que ces Bactéries déterminent une certaine évaporation de l'eau du milieu, qui occasionne l'excavation de la partie supérieure de la culture.

Cultures sur gélose. — Sur gélose, à 37°, on observe, en quelques jours, une couche blanchâtre, épaisse, devenant un peu brune à la longue. Les vieilles cultures montrent un grand nombre de formes d'involution. Elles restent vivantes très longtemps.

Cultures sur sérum. — Le sérum coagulé est liquéfié et donne un liquide épais et visqueux qui fourmille de Spirilles.

Cultures sur pomme de terre. — Il se forme, sur pomme de terre ordinaire, à réaction un peu acide, vers 37° seulement, une mince couche brunâtre, café au lait ou plus jaune, rappelant un peu la culture du *Bacille de la morve* ; parfois il ne se produit rien. Sur pomme de terre légèrement alcalinisée avec la soude, la culture se fait facilement à partir de 20° ; elle est plus abondante et plus jaunâtre ou même brunâtre (1).

Cultures dans le bouillon et liquides similaires. — Le bouillon se trouble rapidement, en moins de quarante-huit heures à 22° et en moins d'un jour à 37° ; il se recouvre, en trois à cinq jours, d'une pellicule mince, fragile, d'un blanc sale, et abandonne un dépôt floconneux assez épais.

Les simples *solutions de peptones*, additionnées d'un peu de sel, sont de très bons milieux pour le *Spirille du choléra*, comme Dunham l'a remarqué le premier (2). Koch recommande l'eau peptonisée 1 p. 100, avec 0,5 p. 100 de sel ; Metschnikoff trouve encore préférable le milieu suivant :

Peptone	1	gramme.
Sel marin	1	—
Gélatine	2	grammes.
Eau	100	—

Ces solutions doivent être amenées à un léger degré d'alcalinité avec la soude. Le microbe y forme un voile semblable à celui du bouillon. Sanarelli donne comme très avantageuse l'addition d'une petite quantité de nitrate de potasse, $0^{gr},10$ p. 100.

Le *liquide d'Ouchinsky* (p. 173) paraît aussi très propice.

(1) Krannhals, Zur Kenntniss des Wachsthums der Kommabacillen auf Kartoffeln (*Centralbl. für Bakt.*, XIII, 1893, p. 33).

(2) Dunham, Zur chemischen Reaction der Cholerabacterien (*Zeitschr. für Hygiene*, II, 1887, p. 337).

D'après G. Roux (de Lyon) (1), le bouillon de touraillon, si favorable à beaucoup de microbes, serait nuisible au *Spirille du choléra*, qui y disparaîtrait peu de temps après l'ensemencement.

Cultures dans le lait. — Ce microbe pullule abondamment dans le lait, sans modifier sensiblement l'aspect du milieu, d'après Koch; d'après d'autres observateurs, une coagulation pourrait s'observer dans certains cas.

Propriétés biologiques.

Vitalité. — Le *Spirille du choléra* est surtout aérobie, mais peut aussi vivre en anaérobie, comme l'a démontré Hüppe ; dans ce dernier cas, le développement est très lent et toujours minime.

Les cultures perdent assez vite leur fertilité ; il s'y développe très tôt des formes d'involution, indiquant que le microbe souffre. Celles sur gélose conservent plus longtemps leur vitalité ; on peut les réensemencer avec succès après cinq ou six mois, même quelquefois après plusieurs années, d'après Koch.

La chaleur le tue facilement ; une température de 60° maintenue pendant dix minutes le fait périr, de même une de 56° après un temps un peu plus long. C'est ce qui prouve bien que les *arthrospores* décrites par Hüppe n'ont pas la valeur qu'il leur attribue.

Le froid ne paraît guère avoir qu'une action empêchante sur la végétation. Le microbe résiste aux températures d'hiver de nos climats; d'après certains auteurs, cependant, beaucoup de cellules seraient tuées.

La dessiccation le tue rapidement, en deux ou trois heures en couches très minces, en vingt-quatre heures en couches épaisses. Toutefois, Kitasato dit l'avoir vu vivre jusqu'à trente-huit jours sur des fils de soie. Guyon (2) a vu le microbe résister jusqu'à cent vingt jours à la dessiccation sur lamelles de verre, faite dans l'exsiccateur.

Cette espèce présente en général une vitalité très faible. Les éléments sont morts après une demi-heure de dessiccation à la température ordinaire; dans les liquides, une chaleur de 50-55° leur est toujours fatale. De très faibles proportions d'acides minéraux arrêtent ou empêchent le développement ; une goutte ou deux de solution d'acide chlorhydrique à 1 p. 100 suffisent pour arriver au résultat. Les acides organiques sont bien moins actifs. Des quantités minimes d'antiseptiques entravent toute croissance ; il suffit d'ajouter aux bouillons de culture, entre autres substances, pour ne pas les voir être fertiles, 1 : 100 000 de sublimé, 1 : 5000 de sulfate de quinine, 1 : 2 500 de sulfate de cuivre, 1 : 400 d'acide phénique.

Les Bactéries saprophytes peuvent le faire disparaître rapidement ; c'est une question qui sera étudiée plus loin.

Virulence. — La virulence de l'espèce est nettement établie aujourd'hui; elle sera étudiée à propos de l'inoculation expérimentale. Elle paraît due à la production par le microbe de substances toxiques.

(1) G. Roux, Action microbicide du bouillon de touraillon sur le Bacille du choléra asiatique (*Sem. méd.*, 1890, n° 31).

(2) Guyon, Influence de la dessiccation sur le Bacille du choléra (*Arch. de méd. expér.*, IV, 1892, p. 82).

Elle s'atténue avec l'âge, les cultures dans les milieux divers; elle peut, par contre, s'exalter par des séries de passages dans des organismes réceptifs.

Produits formés dans les cultures. — Les cultures ont d'ordinaire une réaction franchement alcaline.

Elles développent souvent une odeur fade, désagréable, tantôt un peu éthérée, tantôt rappelant l'odeur de souris comme les cultures sur plaques de gélatine.

Aux dépens des sucres, il se produit un peu d'acide lactique.

On constate facilement la production d'hydrogène sulfuré dans les milieux peptonisés.

Indol. — Aux dépens des matières albuminoïdes, surtout des peptones, on observe une abondante production d'*indol.* La *réaction ordinaire de l'indol* s'observe d'une façon très nette. Mais il y a plus ici : la coloration rouge caractéristique s'observe sans addition de nitrites au produit à examiner, parce que le *Spirille du choléra*, réduisant les nitrates dont on trouve toujours des traces dans le milieu, forme une petite quantité de nitrites. L'addition d'une petite quantité d'acide, *pur de produits nitreux*, suffit, en mettant de l'acide azoteux en liberté, à produire la réaction dite de l'*indol nitreux* ou du *rouge de choléra* (Cholera-Roth). La réaction est surtout concluante lorsqu'on l'obtient avec l'acide chlorhydrique pur ou de l'acide oxalique pur, que l'on peut avoir absolument exempts de produits nitreux; l'acide sulfurique la produit aussi très bien, mais il est plus chanceux de pouvoir s'en procurer d'absolument privé de produits nitreux.

La réaction s'obtient très vite et très intense avec les bouillons peptonisés ou les solutions salées de peptones. Elle peut souvent se constater cinq ou six heures après l'ensemencement, en tout cas dès que le liquide commence à se troubler. On la rend plus forte en ajoutant au milieu une très petite quantité de nitrates; mais si l'on veut s'en servir comme caractère différentiel, il faut que le nitrate soit absolument pur de nitrite; encore, dans ce dernier cas, est-il préférable de prendre le milieu ordinaire, sans aucune addition de nitrate.

En ajoutant au liquide à examiner quelques gouttes d'acide chlorhydrique ou d'acide sulfurique purs, on observe rapidement une coloration rose un peu violacé, souvent intense, qui fonce pendant une demi-heure à une heure, persiste environ un jour, puis passe au brun (1).

La réaction est moins nette avec les albumines de l'œuf ou du sang qu'avec les solutions de peptones. On ne l'observe pas avec le lait ; non plus dans les cultures anaérobies.

La réaction du *rouge de choléra* n'est pas absolument spéciale au Bacille virgule de Koch; quelques autres espèces très voisines, le *Spirille de Finckler* entre autres, la présentent également. On peut la rencontrer, en somme, avec tous les microbes producteurs d'indol qui forment des nitrites aux dépens des nitrates. D'autres donnent bien aussi la même coloration, mais seulement avec des acides impurs, contenant des produits nitreux, ou après addition d'un peu de nitrites, la *réaction*

(1) Bujwid, Eine chemische Reaction für die Cholerabacterien (*Zeitschr. für Hygiene*, II, 1887, p. 52).

de l'indol ordinaire. Il faut noter également la rapidité avec laquelle on obtient la réaction pour le *Spirille du choléra*.

Produits toxiques. — Le fait que le choléra typique se manifeste souvent avec les symptômes d'une intoxication véritable a fait depuis longtemps songer à l'existence d'un *poison cholérique*, élaboré dans l'intestin par les microbes.

Les expériences démontrent d'une façon très évidente la présence de substances toxiques dans les cultures ; mais la nature de ces produits est encore très peu connue (1).

Villiers (2) a retiré, du contenu intestinal, une substance alcaloïdique liquide, à odeur d'aubépine, déterminant chez le cobaye des troubles cardiaques très prononcés. Une dose de 6 milligrammes, injectée sous la peau, le fait périr en trois ou quatre jours, le cœur en diastole, plein de sang, les poumons offrant de nombreuses ecchymoses à la surface. Klebs (3) a extrait de cultures faites sur du poisson cuit une ptomaïne cristallisable qui détermine chez le lapin des crampes musculaires et occasionne rapidement une dégénérescence des cellules épithéliales des tubes urinifères. Pouchet (4) a obtenu des déjections cholériques une ptomaïne liquide s'oxydant très vite à l'air et à la lumière et se colorant en rose, puis en brun. Cette base est volatile ; ses vapeurs déterminent des accidents d'intoxication assez intenses. Ceux que Pouchet a éprouvés lui-même consistaient en un refroidissement très marqué, des crampes douloureuses dans les membres, une anurie complète, symptômes propres au choléra.

Winter et Lesage (5) ont retiré des cultures dans le bouillon une substance toxique soluble dans l'éther qui l'abandonne par évaporation sous forme de gouttelettes huileuses. Elle est insoluble dans l'eau et les liqueurs acides, soluble dans l'éther et les solutions alcalines. L'injection de petites doses de cette substance dans l'estomac du cobaye détermine l'algidité et la mort en vingt-quatre heures. On trouve à l'autopsie des lésions typiques du choléra. Ces mêmes auteurs auraient obtenu un produit identique de cultures de choléra infantile.

Petri (6), en cultivant le *Spirille du choléra* dans les solutions de peptones, obtient une toxine soluble, non altérable par l'ébullition, qu'il regarde comme une toxo-peptone. Gamaléia (7) croit que la substance toxique est contenue dans le corps même des microbes et se dissout dans le liquide par macération ; le liquide de macération renferme deux poisons ; l'un altérable par la chaleur, l'autre résistant au chauffage. Le premier existe déjà en quantités notables dans les cultures

(1) Voy. Voges, Die Cholera-Immunität (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 325, 395 et 444). Avec bonne bibliographie p. 466.

(2) Villiers, Note sur la fonction et sur le rôle des ptomaïnes dans le choléra (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 12 janvier 1885).

(3) Klebs, Die Biologie der Choleravibrionen (*Allgem. Wien. med. Zeit.*, 1887).

(4) Pouchet, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 17 novembre 1884.

(5) Winter et Lesage, Contribution à l'étude du poison cholérique (*Bull. méd.*, 1890, p. 328).

(6) Petri, Untersuchungen über die durch das Wachsthum der Cholerabakterien entstehenden chemischen Umsetzungen (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, VI, 1890, p. 374).

(7) Gamaléia, Recherches expérimentales sur les poisons du choléra (*Arch. de méd. expér.*, IV, 1892, p. 173).

filtrées sur bougies Chamberland, mais s'obtient en proportions plus considérables par chauffage des cultures à 55°-60° trois jours de suite, pendant une heure chaque fois. Il provient des cadavres microbiens. Il est précipité par l'alcool, les acides, le sulfate de magnésie ; il se dissout dans l'eau alcalinisée et se décompose facilement par la chaleur. Les réactions correspondent à celles d'une nucléo-albumine. Le second poison s'extrait des cadavres microbiens, en maintenant à 120° pendant une demi-heure des cultures en bouillon âgées de quinze jours. C'est peut-être un produit de décomposition du premier. Il est précipité par l'alcool, l'acide acétique, l'acétate de plomb ; il est insoluble dans l'eau acidulée et soluble au contraire dans les solutions alcalines étendues. Il n'est pas détruit par un chauffage d'une demi-heure à 120°, mais très rapidement par l'ébullition avec les alcalis autres que le carbonate d'ammoniaque. Ce serait une nucléine. Les effets physiologiques de ces corps seront exposés plus loin.

Pfeiffer (1) se rattache aussi à l'opinion de Gamaléia et croit que la substance toxique, contenue dans le corps des microbes, ne s'en échappe qu'après la mort. Sanarelli (2) obtient un produit très toxique en aidant à la désagrégation des cadavres microbiens par l'addition de soude caustique. Il se sert de cultures âgées d'un mois, faites dans la solution de 2 p. 100 peptone, 2 p. 100 gélatine, 1 p. 100 sel marin. Elles sont fortement alcalinisées avec de l'hydrate sodique et évaporées lentement à 60° presque jusqu'à consistance sirupeuse. Au résidu, on ajoute 10 centimètres cubes de glycérine et on le maintient pendant quinze jours à la température de l'étuve. On ajoute de l'eau distillée pour ramener au quart du volume primitif, on neutralise exactement avec l'acide lactique et on stérilise à 120 degrés.

Ransom (3) dit isoler des bouillons filtrés une substance toxique douée des mêmes propriétés que les Vibrions vivants et sécrétée rapidement par eux dans le milieu.

Pour Mestchnikoff, Roux et Taurelli-Salimbeni (4), la toxine cholérique est bien produite pendant la vie des microbes et diffuse rapidement au dehors. Ils le démontrent par une expérience très simple : Dans un sac de collodion de 3 à 4 centimètres cubes de capacité et stérilisé, ils introduisent une solution de peptone à 2 p. 100 ensemencée avec une trace de *Spirille du choléra* très virulent, puis ferment hermétiquement. Dans un second sac semblable au premier, ils mettent du même liquide dans lequel ont été délayées deux cultures entières du microbe sur gélose, après avoir tué les microbes au moyen des vapeurs de chloroforme. Les deux sacs sont introduits dans le péritoine de deux cobayes de même poids. Un troisième cobaye reçoit un sac semblable, mais ne contenant que du bouillon stérile. Le cobaye témoin reste en bonne santé ; celui qui a reçu le sac aux microbes morts ne montre qu'une légère hyperthermie et un peu d'amaigrissement. Celui qui a

(1) Pfeiffer, Studien zur Choleraätiologie (*Zeitschr. für Hygiene*, XVI, 1894, p. 268).

(2) Sanarelli, Les Vibrions intestinaux et la pathogénie du choléra (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 129).

(3) Ransom, Choleragift und Choleraantitoxine (*Deutsche med. Wochenschr.*, 18 juillet 1895).

(4) Metschnikoff, Roux et Taurelli-Salimbeni, Toxine et antitoxine cholériques (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 257).

reçu le sac ensemencé avec les microbes vivants a de la fièvre après vingt-quatre heures, puis de l'hypothermie après deux ou trois jours et succombe, du troisième au cinquième jour, avec tous les signes de l'empoisonnement cholérique. On n'y trouve nulle part des Spirilles cholériques vivants; ils fourmillent, très agiles, dans le contenu très trouble du sac. Les accidents ne peuvent être dus qu'à un poison soluble, produit par les microbes, qui a diffusé à travers les parois du sac. Ils obtiennent ce poison soluble en ensemençant un microbe à virulence exaltée dans la solution de peptone à 2 p. 100 additionnée de 2 p. 100 de gélatine et de 1 p. 100 de sel marin. Le milieu est laissé quelques heures à l'étuve, jusqu'à ce que la culture soit bien en train, puis réparti dans des boîtes de Petri stérilisées. Après douze heures, le liquide est très trouble et montre un voile épais à la surface. Au bout de vingt-quatre heures, les cultures filtrées sont manifestement toxiques. La toxicité augmente et atteint son maximum du troisième au quatrième jour; elle diminue ensuite à mesure que les cultures deviennent très alcalines et odorantes. On s'oppose à l'évaporation du liquide en plaçant les boîtes dans une enceinte humide. En employant comme milieu de culture du bouillon où ont vécu, pendant une huitaine de jours, certains microbes reconnus comme favorisant le développement du Bacille virgule par Metschnikoff, en particulier une *Torula* qu'il a isolée de l'estomac humain, non toxiques par eux-mêmes pour le cobaye, on obtient encore une toxine plus active.

La toxine préparée par les derniers auteurs n'est pas sensiblement modifiée par la température de l'ébullition; elle perd son activité au contact de l'air. La substance toxique est précipitée par le sulfate d'ammoniaque et l'alcool fort. Elle se conserve assez longtemps dans des tubes remplis, scellés à la lampe et placés à l'obscurité. Les effets physiologiques seront étudiés plus loin. D'après son mode d'obtention, on voit qu'elle doit différer des produits obtenus par Gamaléia, Pfeiffer, Sanarelli, et représenter plus vraisemblablement le poison cholérique véritable qui, vu ses réactions, appartiendrait au groupe des toxalbumines.

D'après Wesbrook (1), au contraire, le produit albuminoïde obtenu serait un mélange de la substance toxique vraie et de diverses matières protéiques du milieu employé; ce qui paraît le démontrer, c'est que la substance toxique obtenue par la culture dans des milieux privés de matières protéiques, comme le liquide d'Ouchinsky, ne donne aucune des réactions qui permettraient de la classer dans les albumoses, peptones, globulines ou alcaloïdes.

Inoculation expérimentale.

Inoculation des cultures. — *Inoculation par ingestion.* — Les animaux d'expérience se sont toujours montrés réfractaires aux inoculations cholériques expérimentales faites par la voie intestinale, qui est celle par où se fait l'infection humaine. Il a fallu recourir à des méthodes spéciales pour y parvenir, ou s'adresser à des lapins nouveau-nés,

(1) Wesbrook, Contribution à l'étude des toxines du choléra (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 318).

comme l'a fait Metschnikoff, ou au Spermophile particulièrement sensible, comme l'a montré Zabolotny.

Nicati et Rietsch (1) sont parvenus à inoculer avec succès des déjections cholériques et des cultures pures à des cobayes. L'ingestion de doses moyennes par voie stomacale ne donnant aucun résultat à cause de l'action nuisible du suc gastrique sur les Bactéries peu résistantes, ils ont imaginé de porter le produit virulent directement dans l'intestin, en l'injectant dans le duodénum à l'aide d'une seringue munie de trocart capillaire. L'irritation de l'intestin, causée par l'opération, doit en outre jouer le rôle d'un adjuvant et créer une véritable prédisposition. Koch (2) a obtenu des résultats positifs en injectant d'abord dans l'estomac une solution de carbonate de soude et la culture pure, puis dans le péritoine une petite quantité de teinture d'opium. Pour lui, le carbonate alcalin servait à neutraliser le suc gastrique; la teinture d'opium paralysait l'intestin et permettait au produit virulent de séjourner dans sa cavité et d'y croître. Doyen (3) pense que la teinture d'opium agit surtout par son alcool, car l'alcool ingéré seul dans l'estomac est tout aussi actif. Il faut user d'une dose d'alcool suffisante pour provoquer l'ivresse ; de $1^{cc},6$ à $1^{cc},8$ d'alcool à 40° par 100 grammes du poids de l'animal suffisent d'ordinaire. L'alcool agit peut-être parce qu'il rend la sécrétion intestinale alcaline ou parce qu'il fait tomber la température à 37° ; à 40°, en effet, le *Bacille virgule* ne se développe que péniblement.

Dans ces conditions, les symptômes du choléra expérimental se déroulent chez le cobaye de la façon suivante : L'injection d'alcool dans l'estomac ou le péritoine fait tomber l'animal dans une torpeur qui dure une heure ou deux. A son réveil, il est abattu; la température rectale de 39°,5 à 40°, son degré normal, tombe à 34°. Le poil est sec, hérissé; la température peut encore baisser à 32°. La mort arrive parfois très vite, au bout de quatre à cinq heures; elle survient la plupart du temps avant vingt-quatre heures, quelquefois seulement au bout de deux, trois ou quatre jours. Les animaux ont le ventre gonflé, très sensible ; ils sont pris d'une diarrhée jaunâtre, devenant presque incolore, visqueuse, tenant de nombreux grumeaux en suspension. La maigreur peut être considérable et l'affaiblissement extrême, si cet état dure quelques jours. L'animal meurt dans l'algidité et le coma.

A l'autopsie, l'estomac contient un mucus clair; l'intestin grêle contient un liquide crémeux, visqueux, très adhérent à la muqueuse ; le gros intestin est souvent gonflé par les matières diarrhéiques. L'estomac montre parfois des Spirilles caractéristiques; ils sont très abondants dans le liquide crémeux de l'intestin grêle, surtout dans les cas foudroyants. L'intestin présente les lésions du choléra chez l'homme. Son revêtement épithélial et une partie de la couche sous-jacente ont disparu ; les éléments déformés se retrouvent dans l'enduit crémeux. Les Spirilles et d'autres Bactéries de l'intestin ont alors pu pénétrer dans les villosités, le long des glandes en tubes et même dans la couche sous-muqueuse. Le liquide péritonéal n'en contient que s'il existe une

(1) Nicati et Rietsch, *loc. cit.*, p. 1021.
(2) Koch, *loc. cit.* p. 1021.
(3) Doyen, *loc. cit.*, p. 1021.

perforation intestinale. Chez les femelles pleines, le microbe peut traverser le placenta et infecter les fœtus ; on le retrouve dans le contenu de l'intestin et le sang du cœur des produits.

Zabolotny (1) a remarqué que le Spermophile (*Spermophilus guttatus*), petit rongeur de la Russie méridionale, avait une aptitude toute spéciale à contracter l'infection cholérique expérimentale par la voie digestive.

En mêlant à la nourriture quelques gouttes de cultures actives de Bacille virgule, la moitié des animaux périt d'infection cholérique ; la mortalité est plus élevée en ajoutant en même temps aux aliments un peu de solution de soude. L'animal devient paresseux, se roule en boule, présente un peu d'hypothermie, mais ne frissonne pas et ne cherche pas à boire. Puis, il survient souvent des crampes et de la diarrhée ; la température baisse, 35° ou 32° ; il se produit de la cyanose du nez et de la langue ; l'animal meurt.

A l'autopsie, tout l'intestin est fortement injecté ; on trouve aussi parfois une péritonite hémorragique, mais plus rarement que dans le cas d'infection intrapéritonéale. L'intestin, très distendu, renferme un liquide où nagent des flocons blanchâtres, et parfois strié de sang. On trouve de très nombreux Spirilles dans l'estomac, l'intestin, souvent les organes abdominaux, le péritoine et assez fréquemment le sang. Malheureusement, il est difficile et coûteux de se procurer des Spermophiles, parce qu'ils ne se trouvent que dans certaines régions de Russie et surtout parce qu'ils ne se reproduisent pas en captivité ; l'espèce est donc loin d'être à la portée des expérimentateurs.

Metschnikoff (2), pensant que les divers microbes du tube digestif devaient avoir une grande part dans la résistance des animaux à contracter le choléra intestinal, eut l'idée de chercher à supprimer ou au moins à diminuer cette influence en s'adressant à de très jeunes lapins, chez lesquels la flore microbienne intestinale est très pauvre. Les jeunes cobayes, prenant de la nourriture solide dès leur naissance, contaminent très vite leur tube digestif ; aussi sont-ils infiniment plus résistants.

Les jeunes lapins, de un à quatre jours seulement, auxquels on fait avaler des quantités de cultures virulentes développées sur un et deux tubes de gélose, prennent, dans la moitié des cas, un choléra intestinal typique. La culture est raclée avec un tube de verre à l'extrémité recourbée, que l'on introduit ensuite dans la bouche de l'animal. La combinaison des microbes favorisants donne de bien meilleurs résultats. En faisant avaler d'abord à l'animal une culture d'une Torula ou d'une Sarcine, isolées de l'estomac de l'homme, la plupart des animaux succombent.

La maladie se manifeste le plus souvent par de la diarrhée séreuse, incolore, présentant de nombreux flocons muqueux jaunes. Le lapin devient triste, immobile ; son ventre est mou, flasque ; sa température baisse plus ou moins vite, jusqu'à 30° et au-dessous ; le museau se

(1) Zabolotny, Infektions und Immunisierungs-Versuche am Ziesel (Spermophilus guttatus) gegen den Cholera-Vibrio (*Centralbl. für Bakt.*, XV, 1894, p. 150).

(2) Metschnikoff, Recherches sur le choléra et les Vibrions ; 4e mémoire, Sur l'immunité et la réceptivité vis-à-vis du choléra intestinal (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 894, p. 529).

refroidit, est cyanosé ; la mort peut survenir en trente-six à quarante-huit heures, ou se faire attendre cinq et six jours.

A l'autopsie, l'organe le plus atteint est l'intestin grêle, toujours hypérémié, surtout dans sa partie supérieure ; souvent même l'hypérémie diffuse lui donne la teinte hortensia si caractéristique. Les vaisseaux du mésentère sont aussi congestionnés. L'intestin est rempli d'un liquide plus ou moins louche, ayant souvent l'aspect de la diarrhée riziforme du choléra humain. Ce liquide fourmille de Vibrions cholériques. Le plus souvent, le microbe reste localisé dans l'appareil digestif et le foie ; dans 25 p. 100 des cas environ, on en trouve dans le sang.

Une semblable expérimentation n'a donné aucun résultat avec les jeunes chiens, les jeunes chats, les jeunes souris.

Inoculation intrapéritonéale. — Koch (1) a observé le premier la mort de cobayes auxquels il injectait des bouillons de culture du Bacille virgule dans le péritoine. Dès ce moment, il avait admis que le microbe produisait, dans l'intestin, une substance toxique dont la résorption déterminait les symptômes caractérisant cliniquement le choléra. Mais les phénomènes observés à la suite d'une telle infection sont loin de représenter le tableau symptomatique du choléra humain ; ce que l'on produit, comme le fait remarquer Metschnikoff, c'est une péritonite cholérique. Pour l'obtenir, on peut suivre avantageusement la technique indiquée par Pfeiffer : Une portion plus ou moins forte, ou la totalité suivant le cas, d'une culture de Bacille virgule sur gélose âgée de vingt-quatre heures est délayée dans une petite quantité de bouillon ou de solution salée physiologique stérilisée, et injectée dans la cavité péritonéale de l'animal. Au bout d'une heure ou deux, l'animal paraît déjà s'affaiblir, perd son appétit, s'affaisse ; puis la température commence à baisser, après avoir quelquefois présenté une légère élévation. L'animal tombe dans le collapsus et meurt dans une hypothermie marquée, souvent avec des convulsions. A l'autopsie, la cavité péritonéale renferme un exsudat abondant, tantôt séreux et montrant un nombre variable de Bacilles virgules, tantôt purulent et ne contenant que de rares microbes souvent inclus dans les globules de pus. L'intestin est distendu, hypérémié par places ou d'une façon diffuse, pouvant même présenter la teinte hortensia ; son contenu liquide ne renferme que peu de Bacilles virgules. Le foie, la rate, les poumons, le cœur ne montrent que des modifications insignifiantes.

Haffkine (2) est parvenu à exalter notablement l'activité d'un virus cholérique, par passages successifs d'animal à animal. Sa méthode consiste :

1° A injecter dans la cavité péritonéale du premier animal une dose plusieurs fois mortelle de virus pris sur une culture sur gélose ; l'animal meurt avec un épanchement très riche en microbes et dont la quantité et la consistance varient suivant la grosseur de l'animal : les animaux de forte taille sécrètent un épanchement abondant et fluide, ceux de taille moindre un épanchement moins abondant et épais.

2° Laisser cet épanchement pendant quelques heures exposé au contact de l'air, à la température ordinaire.

(1) Koch, *Fortschr. der Med.*, 1884, p. 151.

(2) Haffkine, Le choléra asiatique chez le cobaye (*Soc. de Biol.*, 9 juillet 1892).

3° L'inoculer ensuite à d'autres animaux, en choisissant, pour des épanchements abondants, des animaux de petite taille, et pour des épanchements concentrés, des animaux de taille plus grande.

Une série d'une vingtaine de passages amène le virus à l'état de virus fixe; des passages plus nombreux n'augmentent plus la virulence qui est à peu près vingt fois plus grande qu'au début.

Inoculation sous-cutanée. — Les résultats sont plus inconstants. La mort peut survenir rapidement, avec un virus très actif et des doses suffisantes; on observe une légère élévation de température, puis l'hypothermie et des symptômes de septicémie. D'autres fois, un œdème très marqué, une hyperthermie prolongée; un processus local d'ulcération qui peut donner une escarre guérissant lentement; l'animal peut devenir cachectique et mourir. L'injection intramusculaire est plus rapidement mortelle.

Le Spermophile est très sensible aux inoculations sous-cutanées, qui le tuent avec des symptômes de septicémie. On trouve des Bacilles virgules partout.

Inoculation des produits solubles. — La toxine soluble, obtenue par Petri (p. 1030), est assez peu active; il en faut au moins 2 centimètres cubes pour tuer un cobaye moyen, en inoculation intrapéritonéale, avec l'hypothermie caractéristique.

Les deux substances toxiques, isolées par Gamaléia des bouillons des culture (p. 1030), ont des effets physiologiques différents. Le poison de cultures chauffées à 55°-60°, qu'il regarde comme une nucléo-albumine, provoque surtout une diarrhée liquide intense; l'injection intraveineuse de 5 à 10 centimètres cubes, chez le lapin, détermine très vite un grand abattement, une diarrhée très abondante, de l'anurie et une mort rapide ou lente dans un état de cachexie prononcé. Celui des cultures chauffées à 120° est très toxique pour les cobayes, lapins, pigeons, chiens; il détermine, en injection sous-cutanée chez le cobaye, de l'hypothermie et la mort de l'animal en algidité. Des doses très faibles de ce dernier produit déterminent de l'hyperthermie chez le cobaye, qui ne présente jamais d'accoutumance à leur égard, même en débutant par des doses très minimes; les cobayes tuberculeux y sont extrêmement sensibles et périssent avec de très faibles quantités.

La toxine cholérique obtenue par Metschnikoff, Roux et Taurelli-Salimbeni (p. 1031) a une action toxique très marquée sur les cobayes, surtout sur les cobayes moyens de 250 à 300 grammes, les gros de 600 grammes environ résistant beaucoup plus. Elle agit sûrement et aussi rapidement en inoculation sous-cutanée qu'en inoculation intrapéritonéale. Le liquide filtré le quatrième jour de la culture est alcalin et dégage une odeur spéciale. Il fait sûrement périr un cobaye de 300 grammes environ, en seize à vingt-quatre heures, à la dose de un tiers de centimètre cube par 100 grammes du poids en injection sous-cutanée; dans certaines expériences même, il tuait le cobaye de 300 grammes en dix-huit heures à la dose de un quart de centimètre cube en inoculation sous-cutanée. Une quantité double ou triple de la dose minimum mortelle amène la mort en six à dix-huit heures; avec des doses plus fortes, la mort peut être foudroyante.

Les symptômes observés ressemblent beaucoup à ceux qui suivent une injection intrapéritonéale de cultures virulentes. L'animal devient bien vite triste, hérissé; son ventre est distendu, un peu douloureux;

il rend des excréments abondants et humides. L'abaissement de température est déjà prononcé après vingt et trente minutes, si la dose a dépassé la dose minimum mortelle; la chute de la température continue jusqu'à la mort, le thermomètre marque alors 24° ou 25°. Les extrémités se refroidissent, la respiration devient courte et fréquente, les membres restent inertes, les muqueuses se cyanosent, la sensibilité s'affaiblit et la mort survient.

A l'autopsie, on trouve un léger œdème au point d'inoculation ; dans le péritoine, un peu d'épanchement clair, souvent légèrement sanguinolent. L'intestin grêle est hypérémié et distendu par un liquide diarrhéique. Le gros intestin n'est pas modifié. Les parois de l'estomac, le foie, la rate, les reins sont congestionnés; les capsules surrénales, très rouges, présentent souvent de petites hémorragies.

Le lapin adulte supporte mieux que le cobaye la toxine cholérique ; la dose mortelle est augmentée d'un tiers. On observe les même symptômes et les mêmes lésions, mais la température ne descend pas au-dessous de 30 degrés.

Les souris résistent beaucoup plus; les pigeons et les poulets plus encore. Les grands animaux ont peu de fièvre et de l'œdème au point d'inoculation.

Inoculation à l'homme. — L'ingestion de cultures de Vibrions cholériques de diverses provenances a pu, dans plusieurs expériences, déterminer chez l'homme les symptômes cliniques du véritable choléra, donnant ainsi la preuve la plus évidente du rôle que joue le Bacille virgule de Koch dans la production de cette maladie. Metschnikoff (1) décrit, en 1893, un premier cas : l'ingestion d'un tiers de culture sur gélose du Vibrion du choléra de Paris en 1884, précédée de celle d'un gramme de bicarbonate de soude, a déterminé, chez un jeune homme de dix-neuf ans, les symptômes classiques du vrai choléra asiatique : selles riziformes, hypothermie, vomissements, crampes des mollets, anurie. De semblables résultats positifs ont été obtenus par le même savant (2) avec des Vibrions cholérigènes isolés d'eaux de diverses provenances en dehors de toute manifestation de choléra, ce qui démontre clairement leur nature cholérique. Plus récemment, on a eu à déplorer la mort d'Œrgel, assistant à l'Institut d'hygiène de Hambourg, enlevé en quatre jours par une attaque de choléra aigu, pris au laboratoire, en manipulant des cultures de cholériques (3).

La possibilité de la transmission expérimentale du choléra à l'homme ne peut donc plus faire doute, malgré les insuccès obtenus par d'autres, en particulier Bochefontaine et Pettenkoffer.

Immunité. — Vaccination. — Sérothérapie.

Les nombreux insuccès obtenus dans des tentatives faites pour conférer le choléra intestinal à des animaux de beaucoup d'espèces et les difficultés que l'on rencontre à le produire chez les quelques ani-

(1) Metschnikoff, Recherches sur le choléra, 2e mémoire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 583).

(2) *Id.*, Recherches sur le choléra, 4e mémoire (*Ibid.*, VIII, 1894, p. 534).

(3) Reincke, Ein Fall von tödlicher Laboratoriums Cholera (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1894, no 41).

maux réceptifs (p. 1032), démontrent combien est fréquente chez les animaux l'immunité à l'égard du virus cholérique. La question de savoir à quelle cause est dû cet état réfractaire est des plus complexes. Metschnikoff (1) attribue la part la plus grande aux microbes intestinaux dont quelques-uns sont favorisants pour le Bacille virgule, mais dont beaucoup entravent son développement. D'après Fermi et Salto (2), quoique cette action antagoniste soit réelle, surtout de la part du *Coli-bacille*, le facteur le plus important serait une action spéciale de la muqueuse intestinale.

La production artificielle d'un état d'immunité chez l'homme et les animaux réceptifs a été l'objet de très nombreux travaux tendant, les uns à obtenir un vaccin contre le choléra à l'aide de cultures virulentes atténuées, les autres à conférer à des animaux, soit à l'aide de cultures vivantes, soit à l'aide de produits solubles, un état d'immunité assez prononcé pour que le sérum ait une action antitoxique assez persistante pour pouvoir être employé dans un but préventif ou curatif. On en trouvera l'exposé assez long dans un travail récent de Voges (3).

Les premières tentatives de *vaccination anticholérique* ont été faites par Ferran (4), à Barcelone, en 1885, sur le cobaye d'abord, l'homme ensuite. La méthode suivie n'a jamais paru solidement établie et les résultats étaient loin d'être probants.

Haffkine (5), en 1892, a commencé des essais de vaccination et a institué une méthode spéciale qu'il applique actuellement aux Indes. Il part de son virus exalté jusqu'à devenir virus fixe (p. 1035) et l'atténue en le cultivant à 39° dans du bouillon, en présence d'air constamment renouvelé. Dans ces conditions, le *Vibrion cholérique* périt rapidement ; pour prolonger l'expérience pendant un temps suffisant pour l'atténuer, on réensemence le microbe dans un nouveau milieu de culture tous les deux ou trois jours. Une inoculation de ce virus atténué chez le cobaye permet l'inoculation sous-cutanée d'une dose de virus exalté sûrement mortelle pour l'animal sain, sans que l'on observe aucune réaction. L'animal est alors préservé contre toute infection du choléra, de quelque façon qu'on essaie de la produire. Il a appliqué son procédé à l'homme ; il injecte d'abord le virus faible, puis six jours après le virus exalté. Les très nombreuses vaccinations qu'il a pratiquées aux Indes pendant les années 1893, 1894, 1895, plaident éloquemment en faveur de sa méthode.

Les dernières recherches de *sérothérapie anticholérique* ont fourni des résultats qui permettent d'espérer obtenir de bons résultats de cette méthode.

(1) Metschnikoff, Recherches sur le choléra et les Vibrions ; 4e mémoire, Sur l'immunité et la réceptivité vis-à-vis du choléra intestinal (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894, p. 529).

(2) Fermi et Salto, Sur l'immunité à l'égard du choléra (*Ann. d'Igiene sper.*, VI, p. 1).

(3) Voges, Die Cholera-Immunität (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 325, 395 et 444).

(4) Ferran, Sur la prophylaxie du choléra au moyen d'injections hypodermiques de cultures pures du Bacille virgule (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CI, 1885).

(5) Haffkine, Le choléra asiatique chez le cobaye (*Soc. de Biol.*, 9 juillet 1892). — Anticholerae inoculations in India (*The indian medical Gazette*, 1895, nº 1). — A lecture on vaccination against cholera, London, 1895. — Inoculations de vaccins anticholériques à l'homme (*C. R. des séances de l'Acad. des sc.*, juillet 1892).

Lazarus (1) annonçait en 1892 que le sérum d'individus guéris du choléra pouvait, à la dose d'un dixième de centimètre cube, protéger le cobaye contre une inoculation intrapéritonéale de virus cholérique. Klemperer (2) et Metschnikoff (3), d'un autre côté, reconnaissent les mêmes propriétés au sérum d'hommes normaux, n'ayant jamais eu le choléra, dans une proportion de 50 p. 100 environ ; ce dernier savant fait en outre remarquer que le sang d'individus guéris peut ne pas présenter de propriétés préventives. Le sang normal de cheval, de chèvre, de poule, peut être également préventif, mais d'une façon plus inconstante encore.

Paulowski et Buchstab (4), puis surtout Pfeiffer et Issaeff (5) ont cherché à obtenir un sérum plus actif en vaccinant des animaux. Ces derniers expérimentateurs immunisent leurs animaux en leur injectant des cultures stérilisées par la chaleur ou par addition de chloroforme. Ils obtiennent ainsi un sérum extrêmement actif contre l'inoculation intrapéritonéale des cultures vivantes, contre la péritonite cholérique, et encore seulement à la condition de l'injecter une demi-heure après l'inoculation, mais tout à fait impuissant contre le choléra intestinal des petits lapins, comme l'ont reconnu Metschnikoff, Roux et Taurelli-Salimbeni (6). Pfeiffer et Issaeff considèrent comme le meilleur caractère qui puisse servir à reconnaître un Vibrion cholérique vrai, la propriété préventive, à son égard, du sérum des animaux vaccinés avec un Vibrion authentique ; c'est ce qu'ils appellent la *réaction d'immunité* (7).

En immunisant des cobayes, des lapins, des chevaux au moyen de leur toxine cholérique (p. 1031), Metschnikoff, Roux et Taurelli-Salimbeni, à l'imitation de Ramson, ont obtenu un sérum nettement antitoxique, efficace contre le choléra intestinal des jeunes lapins, pouvant par conséquent laisser espérer de bons résultats dans le traitement du choléra de l'homme; les animaux traités par eux survivaient dans la proportion de 56 p. 100, alors que les témoins succombaient dans la proportion de 81 p. 100. Ce sérum antitoxique serait aussi préventif, efficace contre l'inoculation intrapéritonéale de cultures vivantes.

Habitat et rôle étiologique.

Le *Spirille du choléra* se rencontre, nous l'avons vu (p. 1021), d'ordinaire en abondance dans les déjections des hommes atteints de choléra,

(1) Lazarus, Ueber antitoxische Wirksamkeit des Blutserums Choleragebeilter (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1892, nos 43-44).

(2) Klemperer, Untersuchungen über küntslichen Impfschutz gegen Cholera-Intoxication (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1892, p. 970).

(3) Metschnikoff, Recherches sur le choléra et les Vibrions : 1er mémoire, Sur la propriété préventive du sang humain vis-à-vis du Vibrion de Koch (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1893, VII, p. 403).

(4) Paulowski et Buchstab, Zur Immunitätsfrage und Blutserumtherapie gegen Cholerainfektion, I, II, III (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1893, p. 516, 640 et 739).

(5) Pfeiffer et Issaeff, Ueber die specifische Bedeutung der Choleraimmunität (*Zeitschr. für Hygiene*, XVII, 1894, p. 355).

(6) Metschnikoff, Roux et Taurelli-Salimbeni, Toxine et antitoxine cholériques (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 253).

(7) Pfeiffer et Kolle, Weitere Untersuchungen über die specifische Immunitätsreaktion der Choleravibrionen im Tierkörper und Reagenglase (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 129).

et particulièrement dans les flocons muqueux que l'on trouve dans les selles riziformes. Il est rare dans les différents organes et plus encore dans le sang des cholériques.

Les différents Vibrions isolés des injections cholériques appartiennent-ils à une seule et même espèce douée d'un polymorphisme assez étendu, ou doivent-ils être considérés comme des espèces distinctes quoique très voisines comme caractères? Il est encore difficile de se prononcer sur ce point.

Hors de l'organisme malade, le *Spirille du choléra* a surtout été rencontré dans l'eau. Koch l'a trouvé en grande abondance dans un étang, un *tank*, servant à l'alimentation d'un village des Indes, où le choléra est endémique ; l'eau recevait des déjections de malades et servait à laver les linges souillés. Rietsch l'a isolé, pendant la dernière épidémie qui a sévi à Marseille, de l'eau du Vieux Port où se déversent des égouts de la ville. Depuis, il a été rencontré de nombreuses fois dans les eaux de puits, de rivières, de canaux, de canalisations urbaines. Babès l'a cependant signalé sur les effets de malades et dans la poussière de locaux où avaient séjourné des cholériques.

Le rôle étiologique du *Spirille du choléra* paraît être parfaitement établi aujourd'hui.

Sa présence constante dans les cas de choléra véritable, les effets pathogènes provoqués chez l'homme et les animaux par ses cultures pures, démontrent avec évidence qu'il est bien l'agent spécifique de cette affection.

Le choléra est endémique dans certaines parties des Indes, la région du bas Bengale surtout. Là, l'agent virulent trouve réunies bien des conditions nécessaires à sa vitalité et sa propagation. Dans ces contrées, chaudes et humides, il existe, dans beaucoup de localités, des eaux stagnantes, très riches en matières organiques, où se déversent, de temps immémorial, les détritus des populations riveraines ou des foules attirées en pèlerinage par la célébrité religieuse de ces lieux. L'infection a beau champ pour se faire ; les caravanes au retour sèment les malades sur leur route. Ailleurs, l'affection n'apparaît que sous forme épidémique, apportée de première main, ou se propageant par étapes successives, arrivant ainsi jusqu'en Europe, la plupart du temps par voie de mer où le transport est plus rapide et moins facile à empêcher. Dans ce cas, lorsqu'elle se propage dans un centre, elle atteint plus ou moins rapidement un maximum, puis décline et disparaît complètement ; une épidémie nouvelle a toujours pour cause une nouvelle contamination. D'autres fois, on observe des cas isolés ou peu nombreux, le véritable *choléra sporadique*, où la filiation de germe ne se retrouve pas.

Le transport direct, l'importation directe par l'homme de l'agent virulent est un puissant moyen d'infection. L'étude biologique du *Spirille du choléra*, outre les remarques faites depuis longtemps par les hygiénistes, suffit à le prouver. L'air ne peut guère servir de voie de transport; nous savons qu'une dessiccation, même peu prolongée, est fatale pour les cultures les plus virulentes. Le rôle de l'eau potable est ici beaucoup plus important. Un grand nombre de faits le prouvent avec la dernière évidence (1). L'eau ordinaire est un mauvais milieu pour

(1) Netter, Origine hydrique du choléra (*Sem. méd.*, 1er janvier 1896).

cette Bactérie ; elle n'y vit que peu de temps, même lorsque celle-ci contient une proportion assez forte de matières organiques. Il faut peut-être faire exception pour certaines eaux très riches en détritus organiques, comme les eaux d'égouts ou celles qui séjournent dans la cale des navires, qui peuvent alors devenir de véritables milieux nutritifs pour un grand nombre d'espèces d'organismes inférieurs. Notre espèce doit certainement pouvoir y végéter pendant un temps assez long, pour transporter l'affection loin du point de départ, si elle n'est pas étouffée par d'autres plus envahissantes, des espèces de putréfaction surtout. Dans les eaux potables ordinaires, elle a disparu au bout de quelques jours, mais alors elle peut répandre très vite l'affection dans un même centre lorsqu'elle est contaminée et d'autant mieux que la souillure se renouvelle à tout instant. De là, la marche très rapide des épidémies dans les localités où l'eau est riche en matières organiques et facilement contaminée. Mais la bactériologie et l'épidémiologie démontrent que le rôle seul de l'eau ne peut être invoqué ; l'étiologie du choléra est plus complexe. Il faut, en outre, certainement tenir compte de dispositions climatériques ou telluriques, encore peu connues, qui font que certaines villes sont épargnées tandis que d'autres sont fortement éprouvées ; ce qui tient peut-être encore à une hygiène générale mieux entendue, à des habitudes spéciales aux habitants, à une propreté plus grande, à certaines particularités dépendant du lieu, au premier rang desquelles Metschnikoff place la composition de la flore microbienne de l'intestin. Des prédispositions individuelles, les troubles intestinaux surtout, très probablement aussi l'usage peu modéré de boissons alcooliques, comme le démontrent les expérimentations indiquées, jouent un grand rôle dans l'infection. L'origine de la contamination doit être recherchée dans les selles des cholériques ; c'est là surtout qu'il faut s'appliquer à la combattre. Les déjections et les linges souillés par elles doivent être l'objet d'une surveillance de tout instant. Cependant le microbe ne paraît pas pouvoir vivre longtemps dans les selles, particulièrement dans les selles à réaction acide ; on peut cependant l'y retrouver vivant au bout d'un mois ; d'autres fois il a disparu au bout de deux ou trois jours (1).

La condition indispensable pour qu'une personne soit atteinte du choléra est la pénétration du *Bacille virgule* de Koch dans son tube digestif. Mais il faut que l'agent virulent traverse l'estomac et puisse séjourner suffisamment dans l'intestin pour y pulluler. C'est là qu'interviennent alors les conditions qui prédisposent à l'infection ; le terrain peut être rendu favorable par des modifications pathologiques bénignes ; une légère inflammation modifiera l'estomac et l'intestin de telle sorte que l'envahissement par le parasite pourra s'opérer. L'apport des germes infectieux peut se faire de différentes manières. L'eau de boisson, les aliments crus, sur lesquels ils ont été disposés directement ou par l'eau d'arrosage, doivent être un des modes habituels ; les poussières ou les mains qui ont touché des objets salis par les cholériques sont aussi à suspecter avec raison. Sawtschenko (2) a démontré qu'ils pouvaient être absorbés par les mouches et disséminés avec leurs excréments.

(1) Abel et Claussen, Untersuchungen über die Lebendauer der Choleravibrionen in Fäkalien (*Centralbl. für Bakt.*, XVII, 1895, p. 77).

(2) Sawtschenko, Die Beziehung der Fliegen zur Verbreitung der Cholera (*Centralbl. für Bakt.*, XII, 1892, p. 893).

Des recherches de Giaxa (1) ont démontré que le *Spirille du choléra* se conservait mal dans le sol, à cause surtout de la concurrence des nombreuses espèces saprophytes qui s'y rencontrent. La composition et la nature du terrain n'exercent pas d'influence notable sur la conservation du microbe.

Ici, peut-être plus encore que pour la fièvre typhoïde, des précautions sont à prendre en temps d'épidémie. Elles sont du reste plus faciles à appliquer que pour cette dernière affection, et on peut espérer en tirer plus de profit, car le *Spirille du choléra* offre une résistance bien moins grande que le *Bacille typhique*. L'eau de boisson doit être filtrée ou bouillie; les aliments toujours mangés cuits. La désinfection des selles, des sécrétions des malades, de tous les objets souillés par eux doit être faite avec soin. L'eau bouillante, la dessiccation prolongée à haute température, les solutions faibles de sublimé ou d'acide phénique, sont toutes bonnes, vu la faible résistance de la Bactérie pathogène. Les cadavres des cholériques exposent à moins de dangers, surtout lorsqu'ils sont bien ensevelis et enfouis à une profondeur suffisante, sans danger de souillure immédiate pour les eaux voisines. La putréfaction détruit en effet très vite la vitalité du *Spirille du choléra*. L'enfouissement précipité n'est donc pas justifié, à la condition cependant que l'ensevelissement soit fait avec soin. Si des liquides ou du sang s'écoulent sur des objets quelconques, on doit leur appliquer un des procédés de désinfection cités.

De tout cela ressort l'importance extrême de l'isolement des premiers cas. Le diagnostic peut être difficile, surtout si l'affection est bénigne, ce qui n'implique nullement le même caractère pour les cas provenant de contagion, un cas bénin pouvant très bien être l'origine d'une épidémie meurtrière. C'est alors que l'on doit placer au premier rang l'examen bactériologique des selles, pour y établir la présence ou l'absence du *Bacille virgule* virulent.

Une première attaque de la maladie ne semble conférer aucune immunité; le choléra peut frapper plusieurs fois la même personne. Les essais de vaccination et de sérothérapie ne sont pas encore dans la période d'application générale. A l'heure présente, il paraît démontré que la répression du choléra et de la fièvre typhoïde est sous la dépendance directe d'une hygiène bien comprise et bien appliquée.

Recherche et diagnostic.

Il y a quelques années, alors que les caractères du *Spirille du choléra* paraissaient bien fixés, le diagnostic de ce microbe passait pour être facile et offrir toutes les garanties de certitude désirables.

La découverte d'espèces similaires nombreuses, dans les milieux précisément auxquels on doit s'adresser, est venue compliquer singulièrement le problème. De plus, leur étude détaillée a montré qu'il ne devenait plus possible d'attribuer toute confiance aux caractères donnés comme différentiels. Les caractères microscopiques, les caractères des cultures sur gélatine, ceux des cultures dans les solutions de peptones qui avaient paru si particuliers, ont dû être abandonnés les premiers comme ne pouvant plus fournir aucun élément de différenciation. La réaction du rouge de choléra et l'action pathogène sur le cobaye, regardées par Koch

1) De Giaxa, Le Bacille du choléra dans le sol (*Ann. de micr.*, II, 1890, n° 5).

comme absolument caractéristiques, doivent recevoir aujourd'hui une signification beaucoup plus étendue et nullement spécifique au sens restreint du mot. On doit alors se convaincre que la diagnose bien établie du *Spirille du choléra* devient une opération des plus délicates, nécessitant des précautions absolument minutieuses et des expériences bien établies.

Très peu de temps après la découverte du *Spirille du choléra* par Koch, on a signalé la présence d'espèces à caractères très voisins, dans certains milieux naturels ou même dans l'organisme de l'homme en dehors de tout soupçon de choléra.

Miller (1) et Lewis (2) ont signalé la présence dans la salive et la carie dentaire d'une espèce similaire, le *Spirillum spuligenum*, qui, à l'encontre du *Spirille du choléra*, ne se cultive dans aucun des milieux habituels. Deneke (3) en a trouvé une dans du vieux fromage, le *Spirillum tyrogenum*, qui se distingue par les caractères de ses cultures et ses effets presque nuls sur l'organisme.

Finckler et Prior (4) ont découvert, dans les fèces de plusieurs malades atteints de *choléra nostras*, une Bactérie très voisine de celle du choléra vrai, dont elle ne pouvait se distinguer, à leur dire. L'étude comparée attentive des cultures de ces deux espèces permet de les différencier aisément. En culture sur plaques, les colonies du *Spirille de Finckler et Prior* apparaissent plus tôt et se développent plus rapidement. Elles ont déjà atteint 1 à 2 millimètres alors que celles du *Spirille du choléra* forment seulement de très petits points à peine visibles. La figure 324 représente à gauche une colonie de la première espèce après vingt-quatre heures de croissance à 22°; à droite se trouve une colonie de la seconde espèce ensemencée en même temps, sur la même plaque de gélatine ; le grossissement étant le même, il est facile de se rendre compte de la différence de grosseur. Les colonies offrent en outre peu de similitude dans leur aspect à un grossissement moyen; la comparaison des figures 323 et 324 fera saisir la distinction. Les colonies du *Spirille de Finckler* sont de petits îlots arrondis, à contours bien circulaires, finement granuleux, d'une teinte jaunâtre ; leur liquéfaction progresse bien plus rapidement ; en quarante-huit heures, elles peuvent atteindre 2 à 3 centimètres de diamètre. En piqûre dans un tube de gélatine, les deux espèces se développent de la même façon, mais le *Spirille du choléra* présente un retard manifeste sur l'autre espèce. Les figures 326 et 327 représentent l'état de cultures de ces deux espèces faites en même temps, dans une gélatine de composition identique, à une même température. Enfin, les effets pathogènes du *Spirille de Finckler* sont bien moins marqués que ceux du *Spirille du choléra*. Le contenu intestinal des cobayes qui succombent a un aspect tout autre ; il est toujours très liquide et exhale une odeur de putréfaction, ce qui manque dans le vrai choléra.

Depuis, des espèces similaires, très voisines ou même à identifier, ont été signalées de bien des côtés dans la nature.

(1) Miller, Kommaförmiger Bacillen an der Mundhöhle (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1885, nº 3).

(2) Lewis, *The Lancet*, 20 septembre 1884.

(3) Deneke, Ueber ein neue der Choleraspirillen ähnliche Spaltpilz (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1885, nº 3).

(4) Finckler et Prior, Forschungen über Cholerabacterien. Bonn, 1885.

Héricourt (1), le premier, a signalé, dans l'eau de diverses provenances, dans l'air, dans les poussières, des Bactéries courbées qu'il rapproche des *Bacilles virgules* pathogènes.

Ces données ont été, depuis, confirmées et considérablement étendues. De nombreux expérimentateurs ont rencontré dans le milieu extérieur, les eaux, l'air, ou dans les selles cholériques ou normales, des espèces vibrioniennes nombreuses qui présentent, avec le Bacille virgule donné comme typique par Koch, des ressemblances intimes et des différences indéniables (2). Doit-on les considérer comme de bonnes espèces en se basant sur les quelques caractères différentiels connus, ou, au contraire, avec Metschnikoff, admettre que ces Vibrions ne se présentent pas comme des espèces bien définies, mais forment un groupe de formes très variables et très bigarrées, dans lequel il est souvent très difficile de s'orienter? Il est encore difficile aujourd'hui de trancher nettement la question. Elle a pourtant une importance considérable au point de vue de l'étiologie du choléra, en ce sens surtout qu'elle changerait la conception de la spécificité absolue du germe en une conception de l'ubiquité des germes cholériques où une très grande part devrait être faite, dans les manifestations infectieuses, à l'état du terrain et principalement aux modifications de l'intestin. D'après Sanarelli, tous ces Vibrions sont bien des Vibrions cholériques; ceux qui se trouvent dans l'eau proviennent très probablement des déjections de l'homme ou des animaux.

Les caractères morphologiques de ces différents types sont assez variables. Certains sont courts, trapus, nettement en virgule, comme le Spirille type de Koch : d'autres sont beaucoup plus minces, allongés, courbés en arc de grand rayon, se rapprochant de la forme du *Spirille de Massaouah* par exemple. Les résultats obtenus par Metschnikoff avec un Vibrion isolé d'un cas de choléra typique à Angers, montrent qu'il ne faut pas tenir un trop grand compte de telles différences de forme ; en cultivant ce Vibrion, court, trapu, de vrai type indien, pendant longtemps dans peu d'eau peptonisée à 1 p. 100, à l'étuve à 36°, il a constaté qu'à mesure que l'eau de la culture s'évaporait, la forme devenait plus mince et allongée, de telle sorte que des cultures sur gélose faites avec une telle culture âgée de quarante-trois jours, ne contenaient que des filaments de longueur moyenne, et une, faite avec une culture d'un mois et demi, présentait le type fin et allongé du Vibrion de Massaouah, type se reproduisant alors d'une façon stable.

La motilité, le nombre et la disposition des cils, sont tout aussi peu constants. D'après Nicolle et Morax (3), un Vibrion indien, donné comme type par le laboratoire de Koch, était toujours immobile et dépourvu de cils. Certains autres n'en ont qu'un, à une extrémité, les Vibrions cholériques dits de Hambourg, de Courbevoie, de Shangaï, d'Angers, des Vibrions des eaux. Les Vibrions de Massaouah, de Paris (1884), de Courbevoie en ont quatre, deux à chaque extrémité, ou trois à une ou

(1) HÉRICOURT, Les Bacilles courbes des eaux (*Revue d'hyg.*, VIII, 1885, p. 6), et Germes des Bacilles courbes dans l'air (*Ibid.*, p. 279).

(2) DIEUDONNÉ, Zusammenfassende Untersicht über die in dem letzten zwei Jahren gefundenen Choleraähnlichen Vibrionen (*Centralbl. für Bakt.*, XVI, 1894, p. 363).

(3) NICOLLE et MORAX, Technique de la coloration des cils (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 559).

à l'autre, quelquefois même tous les quatre à un pôle. Jamais un nombre plus grand n'a été constaté.

Les propriétés biologiques présentent aussi, dans les différents types, d'importantes variations.

La manière dont les différents Vibrions se comportent dans les milieux de culture ne peut guère fournir de caractères différentiels de quelque valeur.

Les cultures sur gélatine, auxquelles, à la suite de Koch, on avait attribué au début une grande importance, présentent toute une gamme dans la rapidité, l'intensité, l'étendue de la liquéfaction ; il n'est plus possible de leur conserver de la valeur au point de vue de la différenciation des divers Vibrions, bien qu'elles en gardent une indéniable pour le diagnostic de groupe.

Les cultures sur pomme de terre, d'après Sanarelli, ne fournissent qu'un critérium très incomplet, des Spirilles cholériques authentiques ayant les mêmes caractères que des Vibrions cholérigènes isolés d'eaux de localités en dehors de toute manifestation cholérique.

La formation de la pellicule superficielle sur bouillon, que Koch avait donnée comme caractère de diagnose, offre la même incertitude, bien qu'étant toujours, comme la culture sur gélatine, un élément auxiliaire utile.

La non-coagulation du lait peut ne pas s'observer avec des Vibrions d'origine cholérique certaine, en particulier le Vibrion isolé des selles cholériques par Netter, lors de l'épidémie de la banlieue de Paris en 1892.

Koch reconnaît surtout comme de haute importance et pouvant servir à affirmer la nature cholérique de Vibrions, la réaction du rouge de choléra et l'action pathogène sur le cobaye en injection intrapéritonéale.

La réaction indol-nitreuse peut manquer à des Vibrions nettement cholériques, comme le *Vibrion de Rome* isolé de selles d'individus atteints de choléra par Celli et Santori (1) ; elle peut, par contre, se montrer très nette chez plusieurs des Vibrions cholérigènes isolés des eaux de localités non suspectes de choléra, comme ceux trouvés dans les eaux de Gennevilliers et de Versailles par Sanarelli.

La virulence est tout aussi variable. Il est des Vibrions isolés des eaux, comme le *Vibrion de Ghinda* de Pasquale, le *Vibrion de Saint-Cloud* de Sanarelli, des Vibrions isolés d'eaux de la Seine par Blachstein (2), qui se montrent plus virulents pour le cobaye que le *Vibrion indien* type de Koch. D'un autre côté, le *Vibrion de Rome* paraît dépourvu de toute virulence. Entre ces cas extrêmes, on trouve de nombreux degrés de virulence, dans les Vibrions isolés des eaux ou de l'intestin normal, aussi bien que dans ceux isolés de selles de cholériques. C'est même avec le *Vibrion de Ghinda*, souvent improprement appelé *Vibrion de Massaouah*, nom qui doit être réservé au Bacille virgule que Pasquale a isolé de selles cholériques à Massaouah, que Metschnikoff a obtenu ses beaux résultats sur le choléra expérimental des jeunes lapins, à cause de sa virulence. Sanarelli a démontré que plusieurs Vibrions des eaux per-

(1) Celli et Santori, Il Colera in Roma nel 1893 (*Ann. d'Igiene sper.*, IV, 1894, p. 244).

(2) Blachstein, Contribution à l'étude microbique de l'eau (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 689).

mettaient de produire chez l'animal le véritable type de l'infection cholérique expérimentale. Beaucoup de ces derniers Vibrions n'ont aucune action pathogène, parce qu'ils se sont déjà adaptés à la vie saprophytique; l'exemple du *Vibrion d'Angers*, isolé de selles cholériques par Metschnikoff, très virulent au moment de son isolement et déjà presque totalement dépourvu d'activité au bout de vingt-quatre jours, suffit pour démontrer avec évidence la possibilité du fait. La perte de la virulence, l'atténuation de l'action réductrice sur les nitrates et de la propriété de former de l'indol sont une preuve, ici, d'une existence saprophytique.

AGGLUTINATIONS. — SÉRO-DIAGNOSTIC.

Pfeiffer (1) a observé qu'en injectant dans le péritoine d'un cobaye une émulsion de Vibrions cholériques additionnée d'une petite quantité de sérum d'animaux très bien immunisés contre ce Vibrion, on voyait se produire un phénomène particulier, consistant en une destruction extracellulaire des Vibrions par les liquides de l'organisme. Si l'on retire du liquide péritonéal dix, vingt, trente minutes après l'injection, au lieu des Vibrions habituels, on ne rencontre plus qu'une certaine quantité de petits granules arrondis, immobiles, qui représentent les Vibrions dégénérés et morts (fig. 328). Le sérum des hommes convalescents du choléra peut

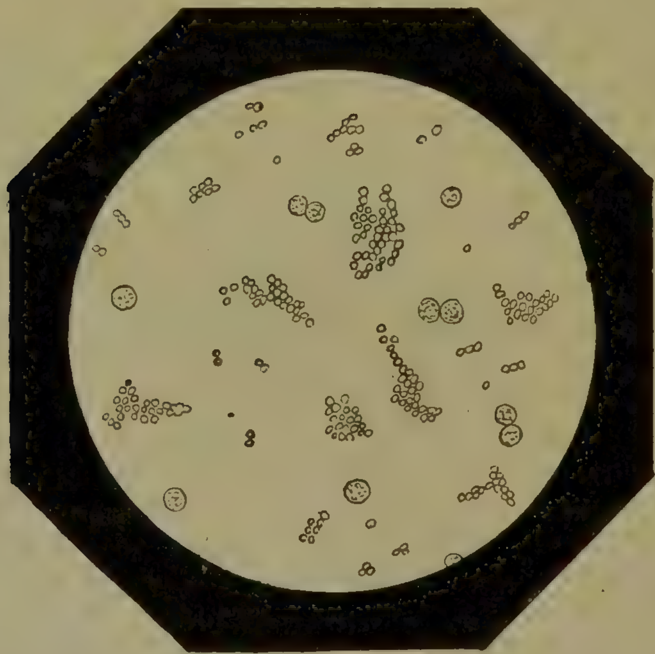


Fig. 328. — Transformation granuleuse du Spirille du choléra. Phénomène de Pfeiffer.

remplacer le sérum d'animal immunisé. C'est là ce qu'on appelle le *phénomène de Pfeiffer*. Metschnikoff (2) a montré qu'il était possible

(1) Pfeiffer, Weitere Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität und über specifisch baktericide Processe (*Zeitschr. für Hygiene*, XVIII, 1894, p. 1). — *Id.*, Zur Differentialdiagnose der Vibrionen der Cholera asiatica mit Hülfe der Immunisierung (*Ibid.*, XIX, 1895, p. 75).

(2) Metschnikoff, Études sur l'immunité. Sur la destruction extracellulaire des Bactéries dans l'organisme (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 433).

d'obtenir cette même réaction *in vitro*, en ajoutant à une émulsion de culture un mélange de sérum d'animal immunisé et de liquide péritonéal de cobaye neuf. Bordet (1) a même vu cette transformation granuleuse s'obtenir avec le seul sérum frais d'un cobaye vacciné contre le choléra.

Le sérum des animaux vaccinés a une action agglutinante manifeste sur les cultures.

L'observation démontre que l'agglutination peut se produire très nettement avec le sérum sanguin des cholériques; il est possible, comme l'ont surtout montré Achard et Bensaude (2), de faire le *séro-diagnostic du choléra*. Pour rechercher la réaction, on procède comme il a été dit pour la fièvre typhoïde. On peut se servir d'une culture en bouillon ne présentant pas de voile, bien uniformément trouble; dans les cultures à voile, les fragments du voile peuvent donner des amas. Il vaut mieux émulsionner une jeune culture sur gélose qui se désagrège très facilement dans du liquide, bouillon ou solution physiologique. Le mélange se fait au dixième ou au quinzième; la réaction est encore le plus souvent nette au vingtième. Certains sérums d'animaux bien immunisés donnent la réaction jusqu'à la dose de 1 p. 1 500.

Le mélange de sérum et d'émulsion de bouillon de culture, placé à l'étuve dans un tube, montre, au bout d'une heure ou deux au plus, une clarification bien nette et la production des gros grumeaux formés par des microbes agglutinés.

La réaction se produit aussi, mais moins nette, avec les Vibrions morts, comme l'a montré Bordet (3) en se servant de cultures stérilisées par le chloroforme.

Les Vibrions similaires, en particulier le *Vibrion de Massaouah*, le *Vibrion de Metschnikoff*, le *Vibrion de Finckler*, ne donneraient pas la réaction, ou, comme l'a montré Bossaert (4), ne la donnent jamais à un taux de dilution aussi élevé.

Blachstein (5) a observé que la chrysoïdine en solution aqueuse provoquait l'agglutination des cultures et des émulsions de *Vibrion cholérique* tout comme le sérum cholérique. Les cultures jeunes, additionnées de un sixième de solution de chrysoïdine à 0,25 p. 100, s'éclaircissent et donnent de gros amas floconneux, après une heure ou deux à 37°. Cette action se remarque aussi avec d'autres types, le *Vibrion de Metschnikoff* et surtout le *Spirille de Finckler*; elle est donc bien moins caractéristique. De plus, Engels (6) a démontré qu'elle pouvait beaucoup varier suivant la provenance de la chrysoïdine, les proportions employées, l'origine du microbe. Elle est loin d'avoir la même valeur que l'agglutination par le sérum cholérique.

(1) Bordet, Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 462).

(2) Achard et Bensaude, Séro-diagnostic du choléra asiatique (*Presse méd.*, 26 septembre 1896, et *Soc. méd. des hôp.*, 23 avril 1897).

(3) Bordet, Sur le mode d'action des sérums préventifs (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 193).

(4) Bossaert, Étude sur l'agglutination comparée du Vibrion cholérique et des microbes voisins par le sérum spécifique et les substances chimiques (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898, p. 856).

(5) Blahstein, Ueber das Verhalten des Chrysoïdins gegen Choleravibrionen (*Münch. med. Wochenschr.*, 1896, nos 44 et 45, p. 1067 et 1100).

(6) Engels, Ueber die Verwendbarkeit des Chrysoïdins bei der Choleradiagnose (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 81).

Bossaert a observé que l'agglutination pouvait également se produire avec le sublimé à 1 p. 1000, la formaline à 1 p. 4, la safranine à 0,25 p. 1000, mais d'une façon irrégulière et aussi bien, ou même mieux, avec des espèces voisines qu'avec des Vibrions cholériques types ; le phénomène n'a jamais la sensibilité ni la netteté que l'on remarque lorsqu'on opère avec le sérum spécifique, il ne peut être utilisé que comme caractère de valeur très secondaire, de probabilité, pour le diagnostic.

Cette réaction d'agglutination, donnée comme tout à fait caractéristique, peut cependant se produire irrégulièrement ; elle peut manquer avec des Vibrions isolés des selles cholériques, ou au contraire se produire avec des Vibrions menant une existence vraiment saprophytique.

Cependant, l'inconstance de la vaccination réciproque, observée par Sanarelli, mais aussi bien entre les Vibrions isolés de selles cholériques qu'entre ces derniers et des Vibrions virulents isolés des eaux, peut faire penser à l'existence de plusieurs types pathogènes, pouvant, aussi bien les uns que les autres, selon les circonstances, produire des manifestations épidémiques. C'est ce qui concorderait parfaitement avec bien des observations épidémiologiques et cliniques.

Comme il peut être utile de connaître les caractères des principaux types, nous allons en dire quelques mots.

Vibrions isolés de selles cholériques.

Vibrion de Massaouah.

Pasquale (1) l'a isolé, en 1891, des déjections d'un cholérique à Massaouah. Fréquemment la dénomination de *Vibrion de Massaouah* est attribuée à tort à un autre type isolé de l'eau d'une localité voisine par le même expérimentateur, le *Vibrion de Ghinda*.

C'est un Spirille long et mince, à courbure peu prononcée, les éléments paraissant plutôt onduleux. Les cils sont au nombre de quatre, disposés comme il a été dit précédemment (p. 1044).

Les cultures dans les solutions de peptones ne donnent pas de suite une pellicule superficielle, mais seulement après quatre jours.

La réaction du rouge de choléra est faible et lente à se produire.

Il est très pathogène pour le cobaye.

Vibrion de Hambourg.

Il a été isolé de selles cholériques pendant l'épidémie de Hambourg en 1892.

La forme, courte et trapue, bien courbée en virgule, rappelle beaucoup le type indien de Koch. Comme lui, il ne possède qu'un cil vibratile.

Il produit nettement la réaction indol-nitreuse et est assez pathogène pour le cobaye.

(1) Pasquale, Ricerche batteriologiche sul colera a Massaua (*Giornale med. R. Esercito*, 1891).

Vibrion de Courbevoie.

Il a été isolé par Netter (1) des selles cholériques, à Courbevoie, pendant l'épidémie de 1892.

C'est un Spirille mince, assez long, bien incurvé. Il ne possède qu'un cil vibratile, à une extrémité.

Le développement sur gélatine est celui du type de Koch. La réaction indol-nitreuse est marquée. Il est assez pathogène pour le cobaye.

Vibrion de Rome.

Il a été isolé par Celli et Santori (2) de selles cholériques.

Il ne donne pas de pellicule superficielle sur les solutions de peptones, ne produit pas la réaction indol-nitreuse et n'est pas du tout pathogène pour le cobaye.

Vibrion d'Angers.

Il a été isolé, en 1893, par Metschnikoff, des selles d'un cholérique.

Il est plus court et plus gros que le Vibrion de Courbevoie, se rapproche du type de Koch et n'a, comme lui, qu'un cil vibratile.

Il donne la réaction indol-nitreuse et était au début pathogène pour le cobaye : un centième de culture sur gélose tuait le cobaye, en injection intrapéritonéale; les microbes abondaient dans le sang. La virulence a rapidement diminué et s'est presque tout à fait éteinte dans les cultures successives.

Vibrion de Lisbonne.

Pestana et Bettencourt (3) l'ont isolé, en 1894, des selles de cholériques et de l'eau d'alimentation à Lisbonne.

C'est un Bacille virgule assez court, peu courbé.

Il ne donne pas la réaction indol-nitreuse et n'est que très peu pathogène pour le cobaye.

Il liquéfie rapidement la gélatine et se rapproche, par les caractères des cultures sur ce milieu, du *Spirille de Finckler*.

Vibrions isolés des eaux.

Vibrion de Ghinda.

Il a été isolé par Pasquale (4) de l'eau d'un puits de Ghinda près Massaouah, peu de temps après une petite épidémie de choléra.

C'est un Spirille assez mince, allongé, peu courbé, donnant peu de filaments.

En culture sur les solutions de peptones, il donne une pellicule en

(1) Netter, Recherches bactériologiques sur des cas de choléra et diarrhée cholériforme (*Bull. de la Soc. méd. des hôp.*, 1892).

(2) Celli et Santori, *loc. cit.*, p. 1045.

(3) Pestana et Bettencourt, Bakteriologische Untersuchungen über die Lissaboner Epidemie von 1894 (*Centralbl. für Bakt.*, 1894, p. 401).

(4) Pasquale, *loc. cit.*, p. 1048.

vingt-quatre heures. Ces cultures ne produisent pas la réaction indol-nitreuse au bout d'un jour, et très faiblement après.

Il est très pathogène pour le cobaye; il suffit de un dixième à un douzième, parfois un vingtième de culture sur gélose pour tuer le cobaye en inoculation intrapéritonéale et même sous-cutanée.

C'est un type auquel on ne peut pas dénier l'action cholérigène; Metschnikoff a produit avec lui le choléra intestinal typique chez les animaux et Fermi un cas de choléra grave chez l'homme.

Les types de Vibrions isolés des eaux sont très nombreux aujourd'hui. On trouvera des renseignements très circonstanciés sur cette importante question dans un beau mémoire de Sanarelli (1). Cet auteur en a isolé jusqu'à trente-deux types des eaux de Seine, des eaux d'égouts, des eaux de drainage de Gennevilliers, d'eaux de Versailles. Parmi eux, il en est que leurs propriétés biologiques, leur action pathogène, ne permettent pas de séparer des Vibrions cholériques vrais; ils sont capables de déterminer, chez l'homme et les animaux, des symptômes morbides cliniquement identiques.

Metschnikoff a reconnu un Vibrion isolé de l'eau de Versailles, nettement cholérigène pour l'homme.

D'autres, non pathogènes, présentent avec les premiers des ressemblances si évidentes, qu'on est conduit à les considérer comme d'origine pathogène, mais adaptés à la vie saprophytique, capables, en tout cas, probablement, d'acquérir à nouveau leurs propriétés perdues lorsqu'ils rencontrent des circonstances favorables.

Vibrions isolés de l'intestin.

Rumpel (2) à Hambourg, Metschnikoff (3) à Paris, ont les premiers signalé dans les selles d'hommes bien portants, en dehors de toute épidémie cholérique pour ce dernier au moins, la présence de Vibrions devant être considérés comme Vibrions cholériques vrais. Ivanoff (4) trouve dans les selles d'un typhique un Vibrion qui présente tous les caractères d'un Vibrion cholérique. Sanarelli (5), en injectant des toxines cholériques à des cobayes, dans l'estomac ou dans les veines, a pu isoler, après la mort de l'animal qui survenait en quelques jours, douze types de Vibrions de leur contenu intestinal. Les microbes préexistaient dans l'intestin, mais trouvaient des conditions très favorables à leur pullulation dans l'état pathologique créé par le poison.

En résumé, en se basant d'un côté sur les résultats obtenus chez l'homme et chez les animaux, surtout par Metschnikoff et Sanarelli, de l'autre sur l'insuffisance de toutes les méthodes prônées pour la dia-

(1) Sanarelli, Les Vibrions des eaux et l'étiologie du choléra (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 693).

(2) Rumpel, Die Hamburger Choleraerkrankungen im Sommer 1893 (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1894).

(3) Metschnikoff, Recherches sur le choléra et les Vibrions; 2e mémoire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 565).

(4) Ivanoff, Ueber eine neue choleraähnliche Vibrionenart (*Zeitschr. für Hygiene*, XV, 1893, p. 434).

(5) Sanarelli, Les Vibrions intestinaux et la pathogénie du choléra (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IX, 1895, p. 129).

gnose, tout aussi bien des caractères de cultures, des caractères morphologiques, des propriétés biologiques, qui conduisent à tout instant à des conclusions paradoxales, il semble que l'on doive considérer tous ces Vibrions comme des Vibrions réellement cholériques, appartenant bien à un même groupe, peut-être à un même type spécifique, considéré dans une large acception du terme, comme il semble qu'on doive le faire pour ces organismes inférieurs formant l'ordre des Bactéries. Les divers types observés seraient alors des variétés, dans le sens attribué à ce mot en botanique, variétés plus ou moins fixées suivant leur adaptation spéciale, pouvant alors présenter des caractères différentiels plus ou moins marqués, pouvant, en particulier, être devenues complètement inoffensives ou produire des substances toxiques ou vaccinantes d'activités bien différentes.

On doit reconnaître l'importance d'une telle conception pour l'étiologie du choléra qui ne devrait plus alors être considéré comme devant être exclusivement causé par l'importation d'un germe infectieux exotique, mais pourrait se développer sur place par suite de l'infection par un germe indigène, être même parfois d'origine auto-infectieuse, lorsque se rencontrent des conditions favorables à son action pathogène. C'est ce qui peut donner l'explication de bien des cas de *choléra sporadique* ou d'épidémies cholériques autochtones, véritable *choléra nostras*, où l'importation ne peut se rencontrer. Ceci ne doit pas, toutefois, réduire l'importance du rôle qui est à attribuer à un germe exotique importé qui peut, à cause de son adaptation spéciale, avoir des propriétés d'infection plus grandes et déterminer des manifestations plus intenses et plus étendues.

Pour être un problème difficile, à cause précisément de cette question des Vibrions cholérigènes, la recherche et le diagnostic du *Spirille du choléra* n'en ont pas moins une importance considérable. Si, du reste, l'on se place à un point de vue plus général, la simple constatation d'un microbe cholérique ou cholérigène peut suffire dans bien des cas à donner satisfaction. Il faut reconnaître qu'alors bien des caractères, insuffisants ou douteux pour permettre de distinguer des types voisins de ces Vibrions, pourront donner des indications précieuses et conduire au but cherché.

Recherches des Vibrions cholériques dans les selles et dans l'eau.

C'est surtout dans les *selles* et dans l'*eau* que l'on peut avoir à rechercher le Vibrion cholérique.

Dans le premier cas, l'examen microscopique des selles ou du contenu intestinal, pratiqué comme il a été dit précédemment (p. 1021) peut déjà donner d'excellents renseignements.

Mais pour établir un diagnostic précis et complet, il est nécessaire de parvenir à isoler le microbe, l'étudier en cultures pures et l'inoculer aux animaux d'expériences.

L'isolement pourra se faire sur gélatine, en cultures sur plaques (p. 1025). Schiller (1) recommande l'emploi des plaques de gélose qui

(1) Schiller, Diagnose der Cholerabacillen mittelst Agarplatten (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1893, p. 640).

peuvent être placées à l'étuve à 37° et donner alors beaucoup plus vite des résultats; au bout de six heures, les colonies profondes sont déjà bien visibles comme de petits disques transparents d'un gris d'acier, on y trouve des formes en virgule et des éléments spirillaires. Elsner (1) donne de beaucoup la préférence à une gélatine à 25 p. 100 que l'on peut mettre à l'étuve à 27°-28°, mais pas plus haut. Pour un litre d'eau, il prend 250 grammes de gélatine extra-fine, 10 grammes d'extrait Liebig, 10 grammes de peptones et 5 grammes de sel marin ; on fait dissoudre le tout au bain-marie à 50°, on neutralise à la soude jusqu'à réaction légèrement alcaline et clarifie au blanc d'œuf.

D'après Deycke (2), l'emploi d'une gélatine aux albuminates alcalins (p. 191) permet d'obtenir de belles colonies en une douzaine d'heures. Il la compose de la façon suivante :

Albuminates alcalins	2,5 grammes.
Peptones	1 gramme.
Sel	1 —
Gélatine	18 grammes.
Soude	1 gramme.
Eau	100 grammes.

La proportion d'eau peut du reste varier selon la consistance que l'on désire obtenir.

Les cultures dans les solutions de peptones salées, qui sont si propices au développement des Vibrions cholériques, permettent aussi d'arriver à un isolement rapide de ces microbes. L'eau peptonisée à 1 p. 100, additionnée de 0,5 p. 100 de sel, donne de très bons résultats; la modification de Metschnikoff (p. 1027) est encore préférable, surtout si on l'additionne de $0^{gr},10$ p. 100 de nitrate de potasse, comme l'a remarqué Sanarelli.

On ensemence ces liquides avec des flocons muqueux des selles ou de l'eau à examiner et on porte à l'étuve à 37°. Un milieu contenant des Vibrions cholériques se trouble très vite; parfois au bout de six heures la couche superficielle, où se ramassent ces microbes très avides d'oxygène, est déjà trouble, il y a là une véritable culture pure. Par de nouveaux ensemencements rapides dans le même milieu, on arrive à être encore plus sûr de la pureté.

En somme, la marche à suivre pour cette recherche est encore celle indiquée par Koch, comprenant les sept opérations suivantes :

1° L'examen microscopique pour les selles (il ne donne rien pour l'eau) ;

2° Les cultures dans les solutions de peptones ;

3° Les cultures sur plaques de gélatine;

4° Les cultures sur plaques de gélose ;

5° La réaction du rouge de choléra;

6° L'inoculation intrapéritonéale au cobaye;

7° La réaction d'agglutination par le sérum cholérique.

Cependant, l'emploi judicieux des cultures sur peptones permet de se passer facilement des cultures sur plaques de gélatine et gélose.

(1) Elsner, Zur Plattendiagnose der Choleravibrio (*Arch. für Hygiene*, XXI, 1894, p. 123).

(2) Deycke, Elective Nährboden für Cholerabacillus (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1893, n° 37).

SPIRILLUM FINCKLERI Finckler et Prior.

(*Vibrio Proteus de Büchner, Vibrion de Finckler et Prior.*)

Atlas de microbiologie, pl. xxxv.

Finckler et Prior (1) ont rencontré dans les selles d'individus atteints de *choléra nostras*, une Bactérie courbe qu'ils donnaient comme identique au *Spirille du choléra*, et qui présente, en effet, de très grandes ressemblances avec cette dernière espèce. Ce n'est qu'en suivant pas à pas et parallèlement le développement des cultures des deux espèces, avec des cultures faites dans des conditions d'inoculation, de température, de milieu nutritif, en tout semblables, que Koch est parvenu à établir leur distinction d'une manière assez précise.

Ce Spirille se trouve souvent dans les matières fécales solides rendues au début de la maladie ; Koch (2) et Van Ermenghem l'ont recherché en vain dans les selles liquides, riziformes. La constatation en est facile au moyen des cultures sur gélatine et surtout des cultures sur plaques.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les bâtonnets sont un peu plus gros et plus longs que ceux du *Spirille du choléra*. Les extrémités sont moins épaisses que la partie médiane et se terminent en pointe, tandis que chez cette dernière espèce elles sont arrondies et de même largeur que le milieu ; vus de face, les bâtonnets rappellent la forme d'un citron, dit Koch. Les mouvements sont identiques. Finckler et Prior ont décrit une formation de spores dans des articles qui se renfleraient un peu et deviendraient fusiformes ; leur assertion n'a pas été vérifiée. L'espèce présente de nombreuses formes d'involution, très faciles à obtenir dans les cultures, même peu âgées ; ce sont ces changements anormaux de forme qui ont conduit Büchner à proposer pour cette espèce le nom de *Vibrio proteus*.



Fig. 329. — Colonie du *Spirille de Finckler et Prior* sur plaques de gélatine après vingt-quatre heures. A droite, se trouve une colonie de *Spirille du choléra* de même âge, beaucoup plus petite, 40/1 (d'après Van Ermenghem) (3).

Cultures. — Le *Spirillum Finckleri* est aérobie. Les cultures se font facilement sur tous les milieux. Le développement en est très rapide ; il se fait environ trois fois plus vite que celui du *Spirillum choleræ* sur les mêmes milieux.

En cultures sur *plaques de gélatine*, on observe de petites colonies jaunâtres, granuleuses, circulaires, à bords nets lorsqu'elles sont petites. La liquéfaction peut commencer au bout d'un jour ; les bords perdent alors de leur netteté et se fondent pour ainsi dire dans le liquide ambiant. La liquéfaction marche rapidement ; parfois en quarante-huit heures toute la

(1) Finckler et Prior, Forschungen über Cholerabacterien. Bonn, 1884.

(2) Koch, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1884, n° 45.

(3) Van Ermenghem, Recherches sur le microbe du choléra asiatique, 1885.

plaque est liquide. Les colonies du *Spirille du choléra*, obtenues dans les mêmes conditions, sont moins granuleuses, ont les bords sinueux au début, puis dentelés lorsque la liquéfaction commence ; leur développement est bien moins rapide. Ce dernier caractère est très apparent sur la figure 329 qui représente, côte à côte, une colonie de chacune des deux espèces au même âge, dans des conditions identiques.



Fig. 330. — Culture du *Spirillum Finckleri* sur gélatine après quarante-huit heures.

En *piqûre* dans un tube de *gélatine*, la liquéfaction produit un entonnoir semblable à celui de la première espèce, mais elle progresse beaucoup plus vite. En quarante-huit heures, de 20 à 25°, elle a atteint le fond de la piqûre, il s'est formé un sac de liquéfaction (fig. 330), alors que l'entonnoir du *Spirille du choléra*, dans les mêmes conditions, est encore très distinct, que son canal présente à peine une trace de liquéfaction (Voy. fig. 326). En trois jours, la gelée du tube est complètement liquéfiée. Comme pour le Spirille du choléra, la liquéfaction ne marche que très lentement à 16° et s'arrête au-dessous.

Sur *gélose*, il forme une bande blanche, un peu jaunâtre. Sur *pomme de terre*, à la température ordinaire, il donne une couche muqueuse blanche, à bords sinueux, tandis que dans ces conditions le *Spirille du choléra* ne se développe pas et produit, au-dessus de 25°, une couche brunâtre. Le *sérum coagulé* est rapidement liquéfié.

Propriétés biologiques.

Toutes les cultures dégagent une odeur putride très appréciable. Elles donnent la réaction positive de l'indol nitreux, c'est-à-dire le *rouge de choléra*, mais plus lentement et d'une manière moins intense que le *Spirille du choléra*.

Le *Spirillum Finckleri* n'est pas tué par une longue dessiccation et résiste beaucoup plus que le *Spirille du choléra* à l'invasion des Bactéries de putréfaction.

Inoculation expérimentale.

Les injections stomacales faites selon la méthode de Koch, ou duodénales d'après le procédé de Nicati et Rietsch pour la Bactérie du choléra, tuent fréquemment les cobayes, mais non d'une façon constante comme pour l'autre espèce. Pfeiffer (1) a obtenu la mort de cobayes par inoculation intrapéritonéale, mais avec des doses de cultures plus fortes que pour le *Spirille du choléra*. Metschnikoff (2) a confirmé ces résultats et vu mourir le pigeon d'une véritable septicémie à la suite de l'inoculation d'une culture sur gélose dans le muscle pectoral ; il a observé également qu'une culture entière sur gélose, absorbée après avoir pris 1 gramme de bicarbonate de soude, déterminait quelques troubles intestinaux chez l'homme. Il se produit probablement aussi des

(1) Pfeiffer, *Zeitschr. für Hygiene*, XI, 1892, p. 408.

(2) Metschnikoff, Recherches sur le choléra et les Vibrions ; 2e mémoire, Sur la propriété pathogène des Vibrions (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 569).

substances toxiques, voisines ou identiques à celles qui ont été signalées dans les cultures de choléra, occasionnant des symptômes analogues à ceux du vrai choléra asiatique, surtout les crampes, l'algidité, l'anurie.

Habitat et rôle étiologique.

En outre des cas où l'ont rencontrée Finckler et Prior, cette espèce n'aurait été retrouvée, et encore avec doute, qu'une fois par Knisl (1) dans le cæcum d'un suicidé et une autre fois par Ruete et Enoch (2) dans les selles d'une femme morte d'une diarrhée profuse.

Il faut peut-être lui rapporter certains des *Bacilles courbes* que Miller (3) a signalés dans les dents cariées, et que Héricourt (4), Sanarelli et d'autres ont isolés de l'air et de l'eau. Ces derniers, entre autres, doivent jouer un grand rôle dans les cas, très fréquents en été, d'entérites cholériformes observées à la suite d'absorption d'eau de mauvaise qualité. Ce *Spirillum Finckleri* est peut-être aussi à rapprocher des *fausses virgules* que Nicati et Rietsch (5) ont trouvées dans les matières fécales de l'homme et de plusieurs animaux et de certains *Vibrions cholériques* que Sanarelli a rencontrés dans les mêmes conditions.

SPIRILLUM SPUTIGENUM Lewis.

Lewis (6) a signalé, dans la salive et le tartre dentaire d'individus sains, des Spirilles identiques à ceux du choléra comme dimensions, comme aspect et comme vivacité de mouvements. Mais ils ne se cultivent sur aucun des milieux de cultures habituels, dans les conditions où le *Spirille du choléra* végète abondamment.

SPIRILLUM TYROGENUM Deneke.

(*Vibrion de Deneke.*)

Deneke (7) a isolé de vieux fromage une Bactérie courbe, qui présente aussi de grandes affinités avec le *Spirille du choléra*, au point de vue morphologique, mais peut s'en distinguer par certains caractères de ses cultures.

Ce sont des bâtonnets courbes un peu plus petits que ceux du choléra, donnant plus facilement des filaments spiralés à plusieurs tours. Ils sont aérobies et liquéfient la gélatine plus vite que le *Spirille du choléra*, mais moins que l'espèce de Finckler et Prior.

Sur *plaques de gélatine*, il forme de petites colonies circulaires, brunâtres, à contours sombres, nets ; la colonie pâlit dès que la liquéfaction commence. En *piqûre*, il se produit, en quarante-huit heures, un sac de liquéfaction un peu moins marqué qu'avec le *Spirille de Finckler*.

(1) Knisl, Beiträge zur Kenntniss der Bakterien im normalem Darmstractus (*Aertzl. Intelligenzbl.*, 1885, nos 36 et 37).

(2) Ruete et Enoch, Fund des Bacillus Finckler-Prior bei einer unter profusen Durchfällen gestorbenen Frau (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1894, no 49).

(3) Miller, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1884, nos 36 et 46.

(4) Héricourt, *Revue d'hyg.*, 1885, p. 6 et 279.

(5) Nicati et Rietsch, Recherches sur le choléra (*Arch. de phys.*, 1885, no 5, p. 97).

(6) Lewis, Memorandum on the comma-shaped Bacillus (*The Lancet*, 20 septembre 1884).

(7) Deneke, Ueber ein neue den Choleraspirillen ähnliche Spaltpilze (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1885, no 3).

Sur *gélose*, on obtient une bande mince d'un blanc jaunâtre ; rien sur *pomme de terre*, même à l'étuve. Le *sérum* est rapidement liquéfié. La réaction indol-nitreuse fait toujours défaut.

Deneke a remarqué qu'en ingestion simple, cette Bactérie ne produit aucun effet ; en opérant d'après la méthode de Koch pour le choléra, trois cobayes sur quinze sont morts. Hueppe (1) a pu tuer les cobayes avec les injections intrapéritonéales. Kasanky (2) a établi qu'un centimètre cube de bouillon de culture de cette espèce faisait rapidement mourir le pigeon avec des symptômes de septicémie. Metschnikoff (3) a confirmé ces dernières données et a en outre démontré que le Vibrion de Deneke pouvait être pathogène pour l'homme à haute dose, en occasionnant, par son ingestion, de la diarrhée cholériforme.

SPIRILLUM METSCHNIKOWI Gamaléia.

(*Vibrion de Metschnikoff*, *Vibrion avicide*.)

Atlas de microbiologie, pl. xxxv.

C'est l'agent d'une maladie infectieuse des poules, observée en Russie par Gamaléia (4). Pfuhl (5) dit l'avoir rencontré dans l'eau.

L'affection est plus fréquente que le choléra des poules, pendant l'été, et frappe surtout les jeunes individus. Les symptômes extérieurs sont très voisins de ceux de cette dernière maladie. Les oiseaux malades sont comme endormis et ont le plumage hérissé ; ils ont de la diarrhée. La température reste voisine de la normale, oscillant de 38 à 41° ; tandis que le choléra des poules détermine une fièvre intense, 43 à 44 degrés.

A l'autopsie, tout l'intestin, hypérémié, depuis le gosier, est rempli d'un liquide séreux, gris jaunâtre, parfois mêlé de sang. Les autres organes, la rate en particulier, sont normaux.

L'examen microscopique ne révèle d'ordinaire rien dans le sang. Si l'on inocule un pigeon avec le sang du cœur d'un jeune poulet, on le voit mourir en douze à vingt-quatre heures. Le sang du cœur renferme une quantité de Bactéries spécifiques.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Ces Bactéries du sang ont la forme et les dimensions du *Spirille du choléra* ; elles sont d'ordinaire en virgule, parfois en spirales de cinq à dix tours plus ou moins rapprochés, toujours très mobiles et munies d'un seul cil vibratile. Lorsqu'on les fait repasser dans un autre pigeon, elles augmentent sensiblement de dimensions.

Cultures. — On en obtient facilement des cultures dans les milieux ordinaires.

(1) Hueppe, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1892.

(2) Kasanky, *Wratch*, 1893, p. 495.

(3) Metschnikoff, Recherches sur le choléra ; 2e mémoire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 566).

(4) Gamaléia, *Vibrio Metschnikowi* et ses rapports avec le microbe du choléra asiatique (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, II, 1888, n° 19).

(5) Pfuhl, Ueber das Vorkommen des Vibrio Metschnikowi in einem öffentlichen Wasserlauf (*Zeitschr. für Hygiene*, XXII, 1894, p. 234).

En culture sur *plaques de gélatine*, les colonies isolées ont l'aspect d'une rondelle liquéfiée, transparente, munie d'un point blanc au centre. Au microscope, on reconnaît trois zones à ces colonies : l'extérieure, formée par la gélatine liquéfiée, est très pâle ; la médiane a des contours sinueux et un aspect granuleux ; le centre est opaque et brunâtre.

En *piqûre* dans la *gélatine*, la culture rappelle celle du *Spirille du choléra*. La partie supérieure se creuse de façon à former une sorte de bulle, puis se liquéfie.

Sur *gélose*, les colonies sont blanches, avec une partie centrale jaunâtre et brillante.

Sur *pomme de terre*, au-dessus de 25°, les colonies sont d'un brun pâle, teinte café au lait, avec un centre plus foncé.

Dans le *bouillon* à l'étuve, en six à sept heures on peut déjà percevoir un léger trouble qui se résout en ondes soyeuses par agitation. Le lendemain, le liquide est recouvert d'un voile mince et fragile. La culture ne dégage aucune odeur. On y trouve souvent de très longues spirales.

Le *lait* ne change pas d'aspect. La caséine se précipite à la longue, mais n'est pas attaquée. Le milieu prend une forte réaction acide ; les Bactéries périssent.

La réaction indol-nitreuse s'obtient toujours très nettement sans addition de nitrite.

Inoculation expérimentale.

Les *pigeons* sont *très sensibles* à l'action de ce microbe. Quelques gouttes de culture, inoculées sous la peau ou dans le muscle, les tuent en huit ou douze heures. Le sang contient alors de nombreux Vibrions. Les passages successifs exaltent notablement la virulence. L'infection par voie intestinale ne réussit pas.

Les *poulets*, au contraire, succombent très facilement à l'infection par la nourriture ; pour les tuer par inoculation sous-cutanée, il faut des doses beaucoup plus fortes que pour les pigeons. Les poules adultes résistent à l'ingestion ; pour leur donner la septicémie, il faut de fortes doses en inoculation sous la peau ou dans les muscles.

Les *lapins* ne sont tués qu'avec de très fortes doses.

Les *cobayes* sont très sensibles et succombent par tous les moyens d'infection.

Metschnikoff n'a rien obtenu chez l'*homme*, par ingestion.

Les pigeons qui survivent aux inoculations deviennent réfractaires. Gamaléia a même observé ce fait très curieux qui démontre qu'il est possible de vacciner ces animaux pour l'une de ces deux maladies avec le microbe spécifique de l'autre : un pigeon rendu réfractaire au choléra asiatique est vacciné pour cette affection et inversement. Toutefois les cobayes vaccinés contre cette espèce succombent à la suite d'inoculations de Vibrions cholériques.

Wolkow (1) a démontré que les bouillons de culture contenaient des produits solubles toxiques. Bruhl (2) a obtenu, à leur aide, quelques résultats dans des tentatives de vaccination ou de sérothérapie.

(1) Wolkow, Toxicité du Vibrion avicide (*Arch. de méd. expér.*, IV, 1892, p. 660).

(2) Bruhl, Contribution à l'étude du Vibrion avicide (*Arch. de méd. expér.*, V, 1893, p. 38).

SPIRILLUM PHOSPHORESCENS.

(*Vibrion phosphorescent.*)

Des Vibrions phosphorescents ont été obtenus à plusieurs reprises des eaux de fleuves et de rivières, des déjections des malades atteints de diarrhée. Kütscher (1) et Dunbar (2), entre autres, ont signalé plusieurs espèces de Vibrions, voisins de ceux du choléra, présentant cette particularité. Certains sont pathogènes pour les animaux, d'autres pas. D'ailleurs, la phosphorescence elle-même paraît être très inconstante chez ces différents types.

SPIRILLUM OBERMEIERI Cohn.

(*Spirochæte Obermeieri.*)

Cette Bactérie a été trouvée, en 1873, par Obermeier (3), dans le sang des malades atteints de *fièvre récurrente*, *typhus récurrent*. Depuis, de nombreux observateurs ont vérifié sa découverte ; aucun, jusqu'ici, n'a toutefois pu en obtenir de cultures.

Ce sont de longs filaments onduleux, appointés aux extrémités, dont la longueur varie de 15 μ à 50 μ sur une largeur maxima de 1 μ ;

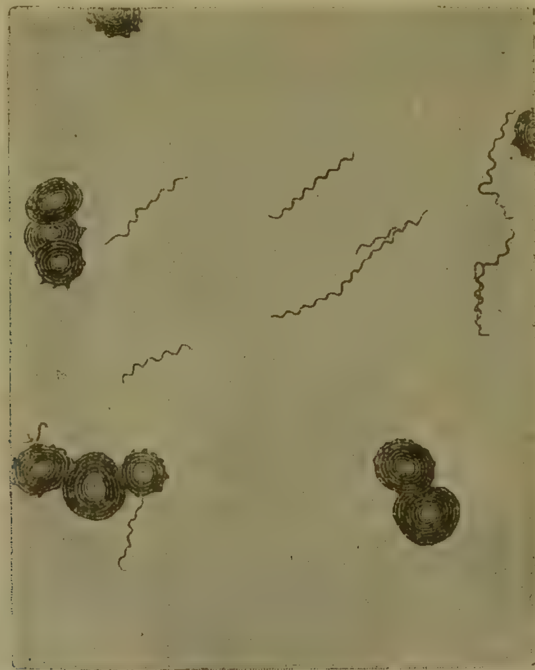


Fig. 331. — *Spirillum Obermeieri.* Sang d'un malade de fièvre récurrente (d'après une photographie de Koch), 700/1.

ils décrivent une spire qui compte de dix à vingt tours en moyenne (fig. 331). Les mouvements sont très vifs ; ils consistent en un mouve-

(1) Kutscher, Ein Beitrag zur Kenntniss der den Choleravibrionenähnlichen Wasserbakterien (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1893, p. 1301). — *Id.*, Zur Phosphorescenz der Elbvibrionen (*Centralbl. für Bakt.*, XVIII, 1895, p. 424).

(2) Dunbar, Versuche zum Nachweis von Choleravibrionen in Flusswasser (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, IX, 1894, p. 379).

(3) Obermeier, Vorkommen feinster, eigene Bewegung zeigender Fäden im Blute von Recurrentkranker (*Centralbl. für die med. Wissensch.*, 1873).

ment de torsion ou pas de vis suivant la spirale et un mouvement de flexion du corps, qui peut onduler à la façon d'un serpent. Les spores ne sont pas connues avec certitude.

On les trouve en grande abondance dans le sang des malades et jamais dans les sécrétions. Ils s'y rencontrent pendant l'accès de fièvre et ont complètement disparu quelques heures après la défervescence. Ils réapparaissent au moment des rechutes, qu'ils précèdent de trois ou quatre heures, et peuvent alors annoncer. L'accès fébrile peut durer une dizaine de jours; c'est au bout d'un jour ou deux que le nombre des Spirilles que contient le sang est le plus considérable. Les cas graves en offrent beaucoup plus que les cas bénins. Ils s'observent facilement en les colorant au violet d'aniline, plus difficilement sans réactif; en usant d'une eau fortement salée, on peut les conserver plus longtemps en vie et étudier leurs mouvements. Leur coloration est difficile, la fuchsine ne les colore que faiblement. Soudakewitch (1) recommande le bleu de méthylène phéniqué.

La technique suivante donne de bons résultats; pour les préparations de sang :

1° Fixer à 75 degrés;

2° Éliminer l'hémoglobine par un lavage avec une solution d'acide citrique à 0,5 p. 100;

3° Neutraliser à l'aide de vapeurs d'ammoniaque;

4° Colorer au violet de gentiane d'Ehrlich.

Koch (2) et Carter (3) ont pu transmettre la maladie à des singes, en leur injectant sous la peau de petites quantités de sang défibriné de malades atteints de fièvre récurrente grave. Cinq jours après l'opération en moyenne se déclarait chez tous un fort accès de fièvre qui durait une huitaine de jours. Pendant tout ce temps, le sang montrait de nombreux Spirilles. Aucun cependant n'a présenté de rechute caractéristique. Une première atteinte ne confère aucune immunité; certains ont pu être inoculés plusieurs fois avec succès, à des intervalles de quelques semaines. Toutefois, ces animaux supportent mieux la réinfection que la première infection. Il en est de même chez l'homme, du reste : une première atteinte, quelque grave qu'elle soit, ne préserve jamais des récidives.

Il est cependant possible, comme l'a montré Ivanoff (4), de conférer au singe une immunité artificielle, due à la fois aux processus de phagocytose qui sont exaltés, et à la formation dans le sang de substances bactéricides produites par les leucocytes. Comme l'ont prouvé Gabritchevsky (5) et Bardach (6), le sang des hommes et des singes

(1) Soudakewitch, Recherches sur la fièvre récurrente (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V, 1891, p. 545).

(2) Koch, Zur Untersuchung von pathogenen Organismen (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1881).

(3) Carter, Contribution to the sperimental pathology of Spirillum-fever (*Medico-chirurg. Transactions*, 1880, p. 79).

(4) Ivanoff, Immunité artificielle dans la fièvre récurrente. Thèse de Saint-Pétersbourg, 1897.

(5) Gabritchevsky, Les bases de la sérothérapie de la fièvre récurrente (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 630).

(6) Bardach, Recherches sur la fièvre récurrente (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 365).

qui ont été atteints de fièvre récurrente possède presque toujours des propriétés spirillicides énergiques; à son contact, les Spirilles se gonflent, se déroulent, deviennent immobiles, granuleux, et finissent par se désagréger complètement.

Les explications qui ont été données de ces faits curieux sont purements hypothétiques et ne sont basées sur aucun fait d'observation. Le microbe introduit dans le sang y pullulerait et l'épuiserait, premier accès qui dure six ou sept jours. Le milieu n'étant plus favorable, il se formerait des spores, qui resteraient quelque temps avant de germer, laissant l'organisme se refaire; c'est la rémission durant une huitaine de jours. Le sang réparé, les spores germeraient. Les Bactéries envahiraient le corps: deuxième accès, moins long que le premier en général, peut-être parce que le sang s'épuise plus vite. La seconde rémission est plus longue; l'organisme fatigué demande plus de temps pour se refaire. Les rechutes sont en nombre variable, trois, quatre et plus; la durée de l'accès diminue de plus en plus jusqu'à s'éteindre. Malheureusement, la formation de spores, sur laquelle est étayée la théorie, n'a même pas encore pu être constatée.

Pour Metschnikoff (1), la disparition des Spirilles et de l'accès qu'ils occasionnent serait due à leur absorption par les phagocytes de la rate; ils sont très abondants en effet dans cet organe, immédiatement à la fin de la crise, alors que le sang n'en montre plus aucun. On peut également penser à faire intervenir l'action de produits solubles, sécrétés par le microbe, favorisant l'action phagocytaire et la disparition du plus grand nombre de parasites.

Cette Bactérie pathogène n'a jamais été rencontrée en dehors de l'organisme malade. Les conditions de l'infection sont très peu connues. Les eaux de boisson peuvent être soupçonnées. La contagion directe, d'homme à homme, paraît certaine. Elle paraît se finir par les Insectes piqueurs, les punaises surtout, qui en ont dans leur intestin, provenant du sang absorbé. Le grattage des piqûres fait une petite lésion par où pénètre du virus contenu dans des excréments de l'Insecte souvent déposés à proximité des piqûres. L'encombrement, la malpropreté, la misère, la famine, sont des causes adjuvantes des plus puissantes.

SPIRILLUM ANSERINUM Sakharoff.

(*Spirochæte anserina.*)

Sakharoff (2) décrit des Spirochètes voisins, comme aspect, de celui d'Obermeier, dans le sang d'oies malades d'une certaine affection septicémique qu'il a observée au Caucase.

Les éléments ressemblent beaucoup à ceux du précédent microbe; ils sont peut-être moins longs, 10 à 12 μ., plus gros et moins souples.

La maladie se transmet facilement à des oies saines par inoculation du sang d'une oie malade. Les poulets et les canards peuvent être inoculés avec succès; les pigeons et les moineaux sont réfractaires.

(1) Metschnikoff, Les Phagocytes dans la fièvre récurrente (*Virchow's Archiv.*, CIX, 1887, p. 186).

(2) Sakharoff, *Spirochæte anserina* et la septicémie des oies (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, V, 1891, p. 564).

Gabritchevsky (1) et Cantacuzène (2) ont pu constater, comme pour l'espèce précédente, l'accumulation, dans le sang des animaux en puissance d'infection, de substances bactéricides spécifiques. D'après le dernier, cependant, les propriétés bactéricides du sang ne se remarqueraient qu'en dehors de l'organisme; il ne se passerait rien de semblable dans les tissus de l'animal malade.

SPIRILLES DE L'ESTOMAC ET DE L'INTESTIN.

On a signalé depuis longtemps de ces longs Spirilles dans l'estomac de plusieurs Mammifères, sans que leur présence puisse comporter une signification connue (3).

Des Spirilles se rencontrent aussi dans l'intestin des animaux. C'est probablement une de ces espèces intestinales que Beauregard (4) a trouvée dans l'ambre gris, calcul intestinal du cachalot, et qu'il a proposé de nommer *Spirillum recti Physeteris*.

Ce sont des Spirilles très mobiles, se décolorant par la méthode de Gram. Ils se cultivent très bien sur gélose à 37°, en une bande blanche, élastique ; moins bien sur gélatine, à 20°, en liquéfiant lentement le milieu; très bien dans le bouillon, qui se décolore et se couvre d'un voile blanc grisâtre.

Dans les cultures sur gélose, on ne trouve que des bâtonnets droits ou légèrement courbés ; dans le bouillon, on a de vrais Spirilles.

SPIRILLUM RUGULA Muller.

(*Vibrio rugula.*)

C'est une espèce assez mal définie, dont on connaît peu les caractères, malgré sa fréquence. Elle abonde dans les eaux croupies, les liquides putréfiés, le tartre dentaire, les selles diarrhéiques. Comme elle est anaérobie, elle ne s'y développe qu'en même temps que d'autres formes absorbant l'oxygène qui lui est nuisible.

Les éléments sont des bâtonnets de 6 à 16 μ de long sur 0,5 à 2,5 μ de large, courbés en arc ou formant un tour de spirale très aplatie (fig. 332 ; *A*, *B*, *C*). Ils sont isolés ou réunis en courtes chaînes ; parfois associés en zooglées floconneuses par du mucilage. Les mouvements sont vifs ; les bâtonnets se meuvent tantôt simplement en ligne droite, tantôt en tournant sur eux-mêmes, en mouvement de vrille; d'après Koch, l'une des extrémités possèderait un cil évident.

Les cultures doivent naturellement se faire à l'abri de l'air.

Dans ces conditions, sur *plaques de gélatine*, il forme, en un à deux jours, de petites taches sphériques jaunâtres, ressemblant assez, d'après

(1) Gabritchevsky, Nouvelles recherches sur la pathologie et la sérothérapie des infections spirochétiques. Saint-Pétersbourg, 1898.

(2) Cantacuzène, Recherches sur la spirillose des oies (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 529).

(3) Salomon, Ueber das Spirillum des Säugetiermagens (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 433).

(4) Beauregard, Note préliminaire sur l'examen bactériologique de l'ambre gris (*Soc. de Biol.*, 17 juillet 1897). — *Id.*, Note sur le *Spirillum recti Physeteris* (*Ibid.*, 24 juillet 1897).

Bonhoff (1), aux cultures du *Bacille du charbon* ; elles s'entourent, dès le troisième jour, d'une zone de liquéfaction.

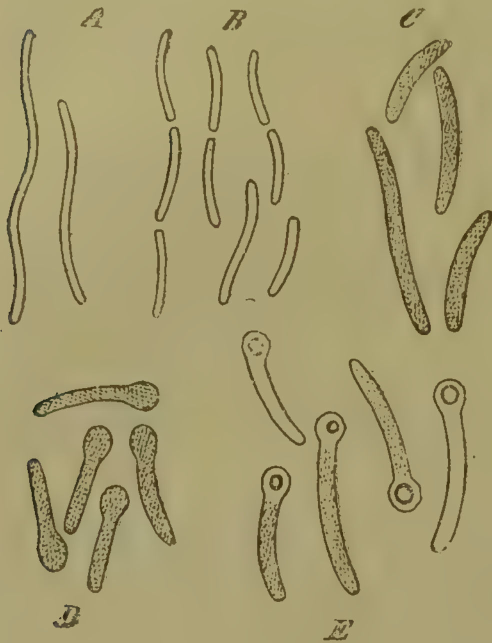


Fig. 332. — *Spirillum rugula* (d'après Prazmowski).

A, B, C, cellules végétatives ; *D, E*, bâtonnets à spores. 1000/1.

D'après Vignal (2), il donne, en piqûre dans la gélatine, cultivé dans une atmosphère d'hydrogène, au bout de vingt-quatre heures, une mince culture blanchâtre, filamenteuse ; la liquéfaction commence le lendemain et a envahi tout le tube en huit jours. A l'air, il pourrait se développer dans les couches profondes de la gélatine.

Sur *gélose*, on observe, en deux jours, de petites taches blanches qui s'étendent plus tard et forment une mince pellicule plissée.

Le *sérum* est liquéfié. Le *bouillon* est rapidement troublé et offre un dépôt blanc abondant. Le *lait* n'est pas modifié, même après longtemps.

D'après Prazmowski (3), cultivé sur *pomme de terre*, il y forme une membrane blanc jaunâtre, ridée, qui envoie des tractus pénétrant profondément dans la substance du milieu.

Les cultures dégagent une odeur fécaloïde intense. L'action physiologique est peu connue ; Prazmowski le considère comme un agent énergique de la décomposition de la cellulose, ce qui n'est pas vérifié (p. 48). Il n'a aucune propriété pathogène.

SPIRILLUM BUCCALE Cohn.

(*Spirochæte buccalis.*)

Il est fréquent dans le tartre dentaire et dans la salive. C'est un long filament de 15 à 20 μ de long, terminé en pointe à ses deux bouts, décrivant une ligne ondulée simple plutôt qu'une vraie spirale. Les mouvements sont très lents ou font totalement défaut.

Cette espèce, ou d'autres voisines se trouvant également dans la cavité buccale, semblent posséder des propriétés phlogogènes, peut-être même être pyogènes. Verneuil et Clado (4) ont fréquemment rencontré de ces Spirilles dans le pus de certains abcès de la cavité buccale ou d'autres dont la production était en rapport avec une contamination buccale, inoculation de carie dentaire ou même plus simple-

(1) Bonhoff, Untersuchungen über Vibrionen und Spirillen (*Arch. für Hygiene*, XXVI, 1896, p. 166).

(2) Vignal, Recherches sur les microorganismes de la bouche (*Arch. de phys.*, 1885).

(3) Prazmowski, Untersuchungen über Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterienarten. Leipzig, 1880.

(4) Verneuil et Clado, Des abcès spirillaires (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 18 janvier 1869).

ment de salive; il est vrai que, dans quelques observations relatées, il existait, à côté des Spirilles, des microbes pyogènes ordinaires. Ces Spirilles ont peut-être quelque rapport avec ceux que l'on trouve toujours en association avec le Bacille fusiforme de Vincent ou le Bacille de la pourriture d'hôpital (p. 883 et 884).

SPIRILLUM TONSILLARE Klein.

(*Vibrio tonsillaris.*)

Il a été rencontré par Klein (1) dans le mucus du pharynx, chez un individu suspect de diphtérie.

Les éléments, très mobiles, sont des bâtonnets courbés, en S allongé, ou en spirales, de la grosseur du *Spirille de Finckler*. Ils se colorent légèrement aux couleurs d'aniline et se décolorent par la méthode de Gram. Les méthodes spéciales font voir un ou deux cils à une extrémité. On ne rencontre pas de spores.

Sur plaques de gélatine, les colonies sont de petits disques à centre sombre et à zones concentriques alternativement claires et sombres. Elles ne liquéfient pas la gelée.

Sur gélatine en strie, on obtient un semis de colonies semblables qui confluent après une huitaine de jours. La gélatine ne se liquéfie pas.

Sur gélose, le développement est rapide à 37°. Il s'y forme une bande transparente qui s'opacifie en quelques jours, et devient un peu jaunâtre au milieu.

Sur pomme de terre, on a rapidement une colonie épaisse, jaunâtre.

Dans le bouillon, il se produit un trouble uniforme et pas de voile. Le liquide ne donne jamais la réaction de l'indol.

Le lait n'est pas coagulé.

Les cultures ne paraissent pas être pathogènes pour le cobaye.

SPIRILLUM PLICATILE Ehrenberg.

(*Spirochæte plicatilis.*)

Ce sont de très minces filaments formant une spire à nombreux tours étroits et serrés (fig. 332), pouvant se replier sur eux-mêmes, former des nœuds ou des spirulines. La longueur atteint souvent 100 à 200 μ, sur une largeur de 0,5 μ. Les extrémités sont arrondies. Les mouvements sont très rapides, tourbillonnants; on peut distinguer une rotation en pas de vis et des ondulations répétées.

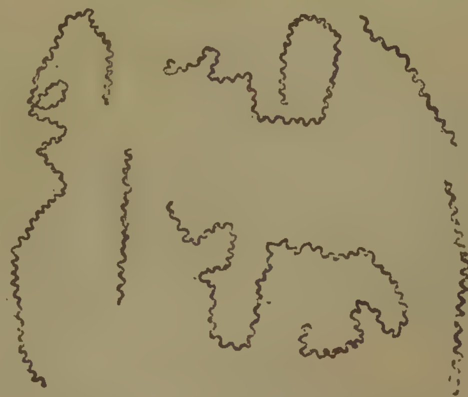


Fig. 333. — *Spirillum plicatile*. Eau stagnante. 800/1.

Ces formes sont très communes dans toutes les eaux stagnantes, surtout dans celles où se trouvent des plantes vivantes ou mortes.

(1) Stephens et Smith, Vibrio tonsillaris, Beschreibung eines aus der Mundhöhle isolierten Vibrios (*Centralbl. für Bakt.*, XIX, 1896, p. 928).

SPIRILLUM SERPENS Muller.

(*Vibrio serpens.*)

Il est commun dans les eaux stagnantes et dans les liquides putréfiés. Les éléments mesurent de 11 à 28 μ de long sur 1 μ de large et décrivent trois ou quatre tours de spire aplatis. Leurs mouvements sont vifs. Ils peuvent se réunir en flocons ou en pellicules superficielles, en s'agglutinant par de la matière muqueuse.

SPIRILLUM ENDOPARAGOGICUM Sorokin.

Sorokin (1) a observé, dans les creux de la tige vermoulue d'un vieux peuplier, un liquide blanchâtre, gluant, à odeur désagréable, fourmillant de Spirilles très mobiles, auxquels n'était mêlé aucun autre organisme.

Ce sont des Spirilles à tours peu nombreux, deux d'ordinaire, trois chez les plus grands, et assez irréguliers, à contenu transparent, dépourvu de toute granulation. Ils se reproduisent rapidement par division, restent parfois unis en zooglées, mais toujours en petit nombre.

A côté des individus mobiles, on en rencontre d'autres sans mouvement, qui renferment des spores ovales, brillantes, de diamètre plus petit que celui du filament, dont le nombre est d'autant plus grand que la cellule mère est plus longue. Ces organes reproducteurs germent dans l'intérieur même de la cellule mère ; il en sort d'abord un bâtonnet

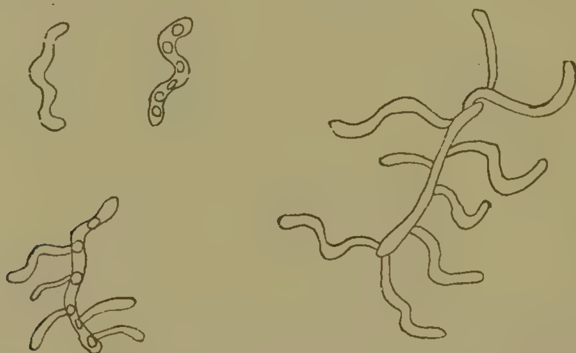


Fig. 334. — *Spirillum endoparagogicum* (d'après Sorokin).

droit, que l'on voit se courber après quinze ou vingt minutes. Les jeunes Spirilles peuvent se détacher de la cellule mère ; souvent ils restent unis avec elle en donnant des formes ramifiées, comme celles qui sont représentées figure 334. A l'endroit de la spore, on ne trouve plus qu'un petit amas de fines granulations.

SPIRILLUM AMYLIFERUM Van Tieghem.

Van Tieghem l'a rencontré dans l'eau avec le *Leuconostoc mesenteroïdes*. Ce sont des filaments rigides, enroulés vers la droite, ayant de 2 μ à

(1) Sorokin, Eine neue Spirillum Art (*Centralbl. für Bakt.*, I, 1887, p. 465, et VII, 1890, p. 123).

1,5 μ de large et décrivant de deux à quatre tours de spire; le pas de l'hélice a en moyenne 6 μ. Dès qu'un article possède quatre tours, il se divise. Tant qu'ils se multiplient par division, ils jaunissent simplement par l'iode.

Cette espèce peut donner des spores. Le filament qui va sporuler cesse de s'allonger, grossit, devient plus réfringent; l'iode le colore en bleu, sauf à deux places, si la spire est à deux tours, qui restent blanches. Ces deux taches se trouvent parfois à chacune des extrémités, parfois une à un bout, l'autre au milieu, plus rarement toutes deux au milieu. Il a dû se former probablement une cloison séparant l'article en deux. A chaque place blanche se forme une spore brillante, ovale, de 2,5 μ à 3 μ de long sur 1,5 μ de large. Le filament cesse alors de bleuir par l'iode. La cloison qui sépare deux tours devient évidente. Les spores sont mises en liberté par résorption de la membrane de la cellule mère. Elles germent en très peu de temps; leur membrane externe se rompt, il sort un tube hyalin qui se courbe d'abord en arc, puis en hélice.

En faisant vivre cette Bactérie à l'abri de l'air, elle devient un agent de fermentation énergique.

SPIRILLE DU MUCUS NASAL.

Weibel (1) donne comme fréquente, dans le mucus nasal des personnes saines, une espèce de Spirille dont il a obtenu facilement des cultures.

Les filaments ont une épaisseur de 1 μ à 1,5 μ et une longueur qui varie de 3 μ à 6 μ. La courbure est très variable; on trouve tous les intermédiaires entre les bâtonnets droits et les articles arqués en demi-cercle. Les courts articles sont le plus souvent droits. Ils ne possèdent aucun mouvement et sont fréquemment en petits groupes dans le mucus, mais n'y forment jamais de filaments.

Sur plaques de gélatine, les colonies croissent très lentement; elles forment, en quatre ou cinq jours, de petits disques blanchâtres de $0^{mm},3$ de diamètre, ne liquéfiant pas la gelée.

En piqûre sur gélatine, il se développe, le long de la piqûre, une bande blanche, délicate, ressemblant à une traînée muqueuse ou à une toile d'araignée, et rien à la surface.

Sur gélose, la culture est plus épaisse, moins transparente; on y trouve des spires qui ont jusqu'à trente tours et plus.

Le bouillon est troublé en quelques heures, à 36°; la pullulation n'est jamais luxuriante et atteint son maximum en trois jours.

On n'obtient pas de culture sur la pomme de terre.

Les formes d'involution sont nombreuses et apparaissent facilement, surtout dans les cultures sur gélatine.

Les cultures n'ont pas d'odeur et ne montrent aucune action pathogène sur les souris.

(1) Weibel, Untersuchungen über Vibrionen (*Centralbl. für Bakt.*, II, 1887, n° 16, p. 465, et IV, 1884, p. 225).

SPIRILLUM CONCENTRICUM Kitasato.

C'est une espèce saprophyte trouvée par Kitasato (1), dans du sang putréfié.

Les éléments sont de courtes spires, à deux ou trois tours, dont les extrémités sont en pointe. La hauteur d'un tour est de 3,5 μ à 4 μ; l'épaisseur du filament est d'environ 0,8 μ. Les mouvements sont rapides. Les spores n'ont pas été observées.

Les colonies, sur plaques de gélatine, sont de très petits disques arrondis, d'un gris pâle, présentant des anneaux concentriques leur donnant l'apparence de cocardes, d'où le nom spécifique.

En piqûre dans un tube de gélatine, la croissance se fait facilement à la température ordinaire; la surface se couvre peu à peu d'une culture floconneuse qui pénètre dans la portion supérieure de la piqûre. La gelée n'est pas liquéfiée.

Sur gélose, en strie, la culture s'étend sur la surface et adhère tellement au milieu qu'il est impossible d'en prélever une portion sans enlever une parcelle de gelée.

Le bouillon se trouble lentement. Dans les vieilles cultures, le liquide s'est éclairci et a laissé déposer un épais sédiment muqueux.

Ce Spirille ne croît pas sur pomme de terre.

Les animaux d'expérience supportent sans inconvénients les inoculations de cultures pures, même à fortes doses.

SPIRILLUM TENUE Ehrenberg.

Les cellules mesurent de 4 μ à 15 μ de long, et à peine 0,4 μ de large; elles décrivent de un à cinq tours, écartés l'un de l'autre de 2 μ à 3 μ. Les mouvements sont vifs; Künstler (2) décrit un bouquet de cils à chaque extrémité. C'est une espèce des eaux stagnantes et des liquides de macérations, animales ou végétales.

D'après Bonhoff (3), sur *plaques de gélatine*, il forme, après quarante-huit heures, de petites colonies rondes, d'un brun sombre, qui ne liquéfient pas la gelée; en *piqûre*, le développement est abondant et la culture blanchâtre. Il ne donne rien sur pomme de terre et se développe très luxurieusement dans les bouillons. Les cultures dans les solutions de peptones donnent la réaction de l'indol.

Il ne semble pas pathogène. Bonhoff a cependant une fois observé, chez une souris blanche inoculée dans le péritoine, le développement d'une péritonite mortelle. Dans le sang du cœur, on retrouvait le microbe en culture pure.

(1) Kitasato, Ueber die Reincultur einer Spirillen aus faulendem Blut, Spirillum concentricum (*Centralbl. für Bakt.*, III, 1888, nº 3).

(2) Kunstler, Contribution à la technique des Bactériacées (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CV, 1884, p. 684).

(3) Bonhoff, Untersuchungen über Vibrionen (*Arch. für Hygiene*, XXVI, 1896, p. 173).

SPIRILLUM UNDULA Muller.

(*Vibrio undula.*)

Les filaments décrivent de un et demi à quatre, quelquefois six tours de spire ; ils ont de 8 μ à 16 μ de long sur 1 μ à 1,5 μ de large. Les mouvements sont très rapides.

Cette espèce se rencontre dans tous les liquides de putréfaction, où elle forme souvent de gros flocons muqueux.

D'après Kütscher (1), elle formerait sur gélose au bouillon un revêtement incolore, transparent, très mince, et donnerait sur gélatine de petites colonies transparentes, assez semblables à celles du *Bacille typhique*.

Les gros Spirilles des cultures montrent des détails de structure assez curieux (2).

SPIRILLUM VOLUTANS Ehrenberg.

Les cellules ont de 25 μ à 30 μ de long et de 1,5 μ à 2 μ de large. Les extrémités sont un peu amincies et arrondies ; chacune d'elles est munie d'un cil. Les mouvements sont rapides. Le protoplasma renferme de nombreux corpuscules sombres, que certains observateurs pensent être des granulations de soufre. La spire est à deux ou quatre tours au plus ; chacun d'eux a de 9 μ à 12 μ de haut et 6 μ de large.

SPIRILLUM LEUCOMELÆNUM Perty.

Les Spirilles ont de deux à trois tours ; ils sont formés par la réunion de courts articles à contenu noir foncé, entourés d'une auréole claire. On les trouve dans l'eau croupissante (3).

Il se trouve dans l'eau stagnante, fréquemment en compagnie de *Beggiatoa*, au cycle d'évolution desquels il appartiendrait, d'après certains auteurs.

SPIRILLUM RUBRUM Esmarch.

Il a été rencontré par Esmarch (4) sur un cadavre de souris morte de septicémie de la souris et laissée à putréfier depuis trois mois. Les organes internes étaient réduits en une masse homogène, grumeleuse, d'un rouge pâle. En en faisant des cultures sur plaques, il a obtenu des colonies d'un court Spirille de 0,8 μ d'épaisseur, décrivant un ou deux tours. Cette Bactérie se cultive très bien sur tous les milieux; elle ne liquéfie pas la gélatine. Dans les liquides, les éléments s'allongent beaucoup ; certains ont jusqu'à trente et quarante tours. Les courts Spirilles ont un mouvement très vif; les longs sont immobiles ou présentent un lent mouvement d'ondulation.

(1) Kutscher, Spirillum undula minus und Spirillum undula majus (*Centralbl. für Bakt.*, XVIII, 1895, p. 614).

(2) Zettnow, Bilder von Spirillum undula majus bei freiwilligem Absterben (*Ibid.*, XIX, 1896, p. 177).

(3) Perty, Zur Kenntniss kleinster Lebensformen. Berne, 1852.

(4) Esmarch, Ueber die Reincultur eines Spirillum (*Centralbl. für Bakt.*, I, 1887, p. 225).

Sur plaques de gélatine, les colonies mettent longtemps à apparaître et croissent lentement ; elles ne sont guère visibles avant huit jours et sont, au bout de quatorze jours, comme des têtes d'épingle. Elles ont une teinte rose pâle.

En piqûre dans la gélatine, il se forme une mince culture colorée en rouge vineux. La coloration est plus forte dans la piqûre, ou lorsqu'on fait la culture à l'abri de l'air. L'absence complète d'oxygène ne paraît pas nuire à la végétation.

Sur gélose ou sur sérum, en strie, il se forme une bande grisâtre, puis rouge rose, assez épaisse, mais ne s'étendant que peu de chaque côté de la strie. Lorsque les tubes contiennent de l'eau de condensation, on y trouve des Spirilles beaucoup plus grands que ceux de la culture.

Le développement se fait très lentement sur pomme de terre ; on obtient de petites colonies d'un rouge sombre.

Le bouillon est trouble en un jour à 37° ; il renferme beaucoup de très grands Spirilles.

Cette Bactérie ne possède aucune action pathogène.

SPIRILLUM ROSEUM.

J'ai observé, dans un tube de gélose ensemencé avec du pus blennorragique, le développement d'une colonie d'un beau rose rouge, qui s'est montrée formée de courts Spirilles. Cette Bactérie vient-elle d'une contamination par l'air, ou est-ce une des nombreuses espèces qui habitent le canal de l'urètre, même à l'état normal? Je n'ai pu résoudre la question.

Les Spirilles sont très courts. Ceux des cultures sur milieux solides ont en moyenne 2 μ de long sur 0,6 μ de large ; ce sont de petits bâtonnets courbés en arc, à extrémités arrondies, isolés ou rarement réunis par deux. Ceux qui vivent dans le bouillon sont un peu plus grands, ils atteignent 4,5 μ sur 0,8 μ ; ils ont la forme d'un S allongé et aplati. Des éléments plus longs sont rares. Les mouvements sont vifs sans être bien étendus. Quelques articles renferment des spores rondes ou un peu ovoïdes. Elles se forment de préférence dans les éléments courts presque droits ; dans un article qui mesure 2,4 μ sur 0,6 μ, la spore mesure 0,6 μ sur 0,8 μ.

La gélatine n'est pas liquéfiée. Il s'y forme des colonies assez épaisses, d'un rouge un peu violet, à surface granuleuse.

Sur gélose, la culture est plus épaisse ; elle est teintée en rouge plus vif, la surface est luisante et les bords bien nets. Elle ressemble à de grosses gouttes de cire tombées sur la gelée.

Sur bouillon, on obtient, après un temps assez long, un voile rose foncé, mince, à surface luisante, comme verruqueuse. Les bords, plus foncés que le reste, sont très adhérents au vase. Le liquide reste clair ; le voile se brise en grands lambeaux et tombe au fond.

Les cultures sur pomme de terre poussent très bien à l'étuve ; ce sont des bandes chagrinées d'un rouge vif.

La matière colorante est très soluble dans l'alcool ; elle donne une liqueur d'un rouge un peu jaunâtre, teinte dite pelure d'oignon.

Ces cultures ne paraissent avoir aucune action pathogène.

SPIRILLUM RUFUM Perty (1).

Il a été rencontré dans l'eau de puits ; il formait à la surface des parois de vases qui le contenaient des taches muqueuses, d'un rouge rose ou d'un rouge-sang. Ce sont de longs éléments de 8 à 16 μ, légèrement rougeâtres, très mobiles, décrivant de un et demi à quatre tours de spire. Les filaments ne paraissent jamais se segmenter en articles.

3e Genre. — LEPTOTHRIX Kutzing.

Ce sont des Bactéries en très longs filaments, non ramifiés, droits, courbés ou ondulés, entourés d'une gaine mince de gelée et semblant être toujours immobiles. A un moment donné, ces éléments se segmentent en articles plus ou moins courts qui s'isolent et peuvent donner, en croissant, des filaments semblables aux premiers.

Le genre *Leptothrix* n'est peut-être pas à distinguer du genre *Bacillus*. Beaucoup de Bacilles, en effet, possèdent la propriété, dans des conditions particulières de milieu, de croître en très longs filaments dont la composition en bâtonnets n'est visible que lorsqu'on les traite par des réactifs coagulants ou colorants. Or, c'est ce qui arrive pour le seul *Leptothrix* dont la morphologie est un peu connue, celui de la bouche. Plusieurs espèces de Bactéries en bâtonnets, habitant normalement la cavité buccale, peuvent peut-être contribuer, à cause des conditions de milieu, à donner ces touffes de longs filaments ; on s'expliquerait alors facilement la divergence des caractères exposés par les divers auteurs surtout la différence des dimensions.

LEPTOTHRIX BUCCALIS Ch. Robin (2).

Morphologie.

Ce sont de longs filaments mesurant de 0,8 à 1 μ de large avec une longueur très variable de 15 à 100 μ et en moyenne de 30 à 50 μ entourés souvent d'une très mince gaine de gelée. Ils forment souvent des amas floconneux denses, ou sont réunis côte à côte en faisceaux. Le contenu est hyalin, dépourvu de granulations. Lorsque les filaments atteignent un certain âge, ils se divisent en articles qui s'isolent et végètent indépendants. Cette segmentation est visible très tôt sur les préparations fixées et colorées aux couleurs d'aniline ; elle représente peut-être même l'état normal. Certains filaments peuvent présenter des ondulations assez régulières, rappelant les longs Spirilles ; Zopf rattache même, mais sans preuve, le *Spirillum buccale* à cette espèce de *Leptothrix*.

Traités par l'iode, eau iodée ou solution de Lugol, les filaments se colorent en violet ou en bleu sombre, plus ou moins violacé, selon le séjour

(1) Perty, Zur Kenntniss kleinster Lebensformen. Berne, 1852.

(2) Ch. Robin, Histoire naturelle des végétaux parasites, p. 345. Paris, J.-B. Baillière, 1853.

plus ou moins long dans le réactif. Le fait doit être dû à la présence d'une substance amylacée soluble. Les filaments morts ne présenteraient plus cette particularité (1).

Les éléments se colorent très bien aux méthodes ordinaires et *restent colorés* par la méthode de Gram.

Habitat.

Ces formes sont très communes dans la bouche; on en rencontre en abondance dans l'enduit lingual, dans la salive, dans la matière onctueuse qui se trouve sur les dents, dans celle qui remplit les cavités des dents cariées, dans les cryptes des amygdales, où elles peuvent végéter abondamment et former des efflorescences blanches ; on en observe parfois dans le contenu stomacal, où elles sont entraînées par la salive ou les aliments, mais elles n'y croissent pas, à cause de l'acidité du milieu.

On les trouve chez l'homme et les carnivores, plus rarement chez les herbivores. Elles doivent jouer un grand rôle dans la formation du tartre dentaire, rôle qu'avait entrevu Mandl (2) ; elles le constituent en se fixant aux dents et en déterminant autour d'elles la précipitation des sels calcaires de la salive. Miller (3) en a obtenu de très reconnaissables du tartre dentaire de momies égyptiennes, en enlevant les sels de chaux à l'aide d'acides étendus. Ces *Leptothrix* sont aussi une des grandes causes de caries des dents. Lorsque la couche d'émail disparaît, elles peuvent pénétrer progressivement dans les canalicules dentaires et miner peu à peu l'ivoire.

Cultures.

Les cultures pures sont peu connues ; Vignal (4) dit en avoir obtenu de la salive et leur assigne les caractères qui vont suivre :

Sur *plaques de gélatine*, le *Leptothrix buccalis* donne, au bout de trois ou quatre jours, une légère saillie arrondie, d'un blanc grisâtre, autour de laquelle se forme plus tard un bord festonné, semi-transparent. Ce bord s'étend en vieillissant et la gélatine se ramollit sous la colonie.

En piqûre dans un tube de *gélatine*, la liquéfaction commence au second jour : il se forme une petite cupule pleine de liquide clair et recouverte d'une mince membrane blanche, irisée. Le tube continue à se liquéfier et montre au fond un dépôt floconneux blanc.

Sur *gélose*, à 37°, la culture recouvre très vite toute la surface de la gelée ; elle y donne une membrane plissée d'un blanc jaunâtre.

Les colonies sur *pomme de terre* sont des taches blanches, plates. Le *bouillon* se trouble légèrement et laisse déposer un léger sédiment, mais ne montre jamais de voile.

(1) Illine, Contribution à la biologie du *Leptothrix buccalis* (*Wratch*, 1894, p. 448).

(2) Mandl, Recherches microscopiques sur la composition du tartre dentaire et des enduits muqueux (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XVII, p. 213).

(3) Miller, Der Einfluss der Microorganismen auf die Carie der Zähne (*Arch. für exper. Path.*, XVI, 1882).

(4) Vignal, Recherches sur les microorganismes de la bouche (*Arch. de phys.*, 1886).

Ces *Leptothrix* peuvent présenter une végétation à tendance envahissante, sur la muqueuse du pharynx ou dans les cryptes amygdaliennes surtout, y former un revêtement blanchâtre assez étendu, pultacé, ou plus souvent des touffes blanches isolées, plus ou moins développées, déterminant une *mycose pharyngée* d'ordinaire bénigne, mais à évolution longue, difficile à enrayer. Les touffes blanches sont d'ordinaire très adhérentes aux amygdales, ne s'enlèvent qu'avec difficulté, probablement parce qu'elles se développent à l'intérieur des cryptes ou des replis des amygdales et que les parties terminales seules deviennent visibles. Arustamow (1) y a rencontré deux espèces, à caractères bien voisins, qu'il a pu isoler en culture sur plaques.

La première donne, sur plaques, des colonies étoilées, à centre plus sombre, paraissant formées de filaments entortillés qui prennent une direction radiaire à la périphérie. En strie sur gélose, il se forme, le long de la strie, de petites taches homogènes d'un blanc de lait. Dans le bouillon, on n'observe qu'un léger dépôt nuageux sur le fond du vase. La culture sur pomme de terre est des plus minimes. Les filaments de ces cultures sont homogènes, ont une largeur de 0,5 à 0,6 μ et une longueur de 8 à 50 μ; leur longueur est moindre sur gélose. C'est un anaérobie vrai.

La seconde espèce forme sur gélose une pellicule grise, épaisse, plissée, et dans le bouillon un léger voile blanc, ridé. C'est une espèce aérobie.

Le *Leptothrix buccalis* peut occasionner seul de véritables angines (2) qui peuvent même prendre l'aspect diphtéroïde (3).

Il pourrait même produire des lésions rappelant celles de l'actinomycose, où se rencontreraient des grains, affectant parfois une structure radiée, formés par des filaments présentant la réaction particulière vis-à-vis de l'iode.

Miller (4) a décrit, sous le nom de *Leptothrix gigantea*, de longs filaments, beaucoup plus épais que ceux du *Leptothrix buccalis*, qu'il a rencontrés dans le tartre dentaire de beaucoup d'herbivores, du chien, du chat et du porc.

Le *Leptothrix epidermidis*, signalé par Bizzozero sur la peau de l'homme, n'est autre chose qu'un Bacille du groupe des *Bacilles de la pomme de terre*.

Le *Leptothrix placoides alba*, isolé par Dobrzyniecki (5) d'une dent cariée, est un *Cladothrix*. Bien des mycoses décrites sous le nom de *mycoses à Leptothrix* sont certainement dues à des espèces de *Cladothrix*.

(1) Arustamow, Zur Morphologie und Biologie der Leptothrix (Anal. in *Centralbl. für Bakt.*, VI, 1889, p. 349).

(2) Stern, Ueber Pharyngomycosis leptothrica (*Münch. med. Wochenschr.*, 1893, n° 20).

(3) Meunier et Bertherand, Étude clinique et bactériologique d'un cas d'angine aiguë diphtéroïde à Leptothrix (*Arch. de méd. des enfants*, octobre 1898).

(4) Miller, Ueber einen Zahnspaltpilz, Leptothrix gigantea (*Berichte der deutschen botan. Gesellschaft*, 1883).

(5) Dobrzyniecki, Ueber Leptothrix (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 225).

LEPTOTHRIX OCHRACEA Kutzing.

Cette espèce a été très sommairement décrite par Kützing, puis considérée après par Zopf comme appartenant au développement de son *Cladothrix dichotoma*. Winogradsky (1), qui l'a étudiée à nouveau, la considère comme parfaitement établie.

Elle est très commune dans les eaux qui contiennent du fer. Ce dernier auteur donne pour l'obtenir le procédé suivant : On remplit d'eau de puits, contenant en suspension de l'oxyde de fer récemment précipité, des éprouvettes dont le fond est garni de foin cuit dans beaucoup d'eau. Dès qu'il se produit un dégagement de gaz, on aperçoit, à la surface de l'eau et sur les parois du vase, des petits flocons et des petites taches de couleur de rouille. En huit ou dix jours, toute la paroi est recouverte de ces taches et, à la surface, nagent de grosses zooglées de même couleur. Les taches et les zooglées sont formées de filaments de *Leptothrix ochracea*, qu'accompagnent diverses autres espèces de Bactéries.

Winogradsky n'a pas isolé cette espèce en culture pure. Il en a simplement observé la morphologie en cellule, sous le microscope.

Ces filaments ne croissent pas si l'eau où ils se trouvent ne renferme pas un peu de protoxyde de fer. Il en est de même dans une eau nutritive qui s'est oxydée à l'air. Ils sont constitués par une série de fins bâtonnets entourés d'une gaine gélatineuse plus ou moins épaisse. Une des extrémités de ces filaments est fixée aux parois du vase, l'autre est libre. A la base, la gaine est plus épaisse et atteint au moins quatre fois la largeur du filament ; elle va en diminuant vers la partie terminale où elle fait tout à fait défaut. Certains filaments perdent leur gaine et s'accolent à d'autres à angle aigu, simulant ainsi une fausse ramification.

La gaine possède la propriété particulière de fixer le fer que contient l'eau ; elle se teint alors en brun rouge ou en brun verdâtre. Le sel de fer est un aliment essentiel pour cette Bactérie.

A certains moments, il se forme de courts bâtonnets mobiles qui sont peut-être des arthrospores (2).

Chez les *Leptothrix*, les courts éléments, provenant de la segmentation des filaments, peuvent se réunir en petites zooglées arrondies, en s'accolant à l'aide de la matière mucilagineuse qui les entoure ; cette phase fait très probablement partie des formes, bien peu connues, décrites sous le nom de *Myconostoc gregarium*.

D'autres organismes, décrits comme *Leptothrix*, sont encore moins connus; la plupart sont certainement des Algues plus élevées.

4e Genre. — CLADOTHRIX.

Cohn (3) a créé le genre *Cladothrix* (κλαδος, rameau ; θριξ, poil) pour un organisme microscopique, filamenteux, incolore, abondant dans les

(1) Winogradsky, Ueber Eisenbacterien (*Bot. Zeit.*, 1888, p. 262).

(2) Winogradsky, Sur le pléomorphisme des Bactéries (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, III, 1889, n° 5).

(3) Cohn, Untersuchungen über Bacterien (*Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, I, 3e partie, p. 341).

eaux douces ou saumâtres, courantes ou stagnantes, surtout celles qui renferment des plantes en décomposition, caractérisé par une disposition manifeste des éléments en fausse ramification (fig. 335), son *Cladothrix dichotoma*.

Les auteurs qui se sont occupés de ces organismes sont loin d'être d'accord à son sujet. La même dénomination a été attribuée à des êtres bien divers. Il en est qui sont certainement des Algues incolores, pourvues de gaine ou sans gaine. D'autres ne peuvent être distingués des *Leptothrix*; la disposition en fausse ramification ne peut servir à les distinguer; nous avons vu précédemment que, d'après Winogradsky, les éléments du *Leptothrix ochracea* se disposent parfois en fausse ramification, ce qui avait amené Zopf à le considérer comme une des phases de développement du *Cladothrix dichotoma* de Cohn. Les organismes étudiés sous le nom de *Cladothrix dichotoma* par Billet (1), Büsgen (2), sont des Algues inférieures bien différentes et ne correspondent pas à la diagnose, si peu précise du reste, de Cohn. La coupe générique de Cohn paraît donc être parfaitement caduque.



Fig. 335. — *Cladothrix dichotoma*, d'après Cohn. 600/1.

Dès 1888, me basant sur la non-existence, comme type bien établi, du genre *Cladothrix* de Cohn, pour conserver le nom très significatif et très répandu, j'avais proposé d'établir un nouveau genre *Cladothrix* pour des organismes très voisins sûrement des *Leptothrix*, s'en distinguant en ce qu'ils présentaient une ramification vraie (fig. 336, *a*), dont un avait été décrit par Cohn sous le nom de *Streptothrix Foersteri*. Ce naturaliste avait créé le genre *Streptothrix* pour des organismes ne se distinguant des *Cladothrix* de Cohn que par l'existence d'une ramification vraie des filaments. La dénomination de *Streptothrix* aurait parfaitement pu être conservée ; mais elle avait été antérieurement employée dans la nomenclature botanique. Corda (3) l'avait donnée, en 1842, à des Champignons Hyphomycètes vivant sur les troncs ou les branches des Conifères. Il devenait donc nécessaire de changer de dénomination générique; rien ne s'opposait à ce que l'on choisît la dénomination libre de *Cladothrix*, en spécifiant que la conception du type ainsi établi était différente de celle de Cohn. Ce n'est que postérieurement que Toni et Trevisan ont proposé le nom générique de *Nocardia*.

(1) Billet, Contribution à l'étude de la morphologie et du développement des Bactériacées (*Bull. sc. de la France et de la Belgique*, 1890).

(2) Busgen, Kulturversuche mit Cladothrix dichotoma (*Berichte der deutschen botan. Gesellschaft*, 1894, p. 147).

(3) Corda, Anleitung zum Studium der Mykologie, 1842. — Et : Icones Fungorum hucusque cognitorum, 1854.

Sauvageau et Radais (1), en étudiant avec soin plusieurs de ces organismes, se basant sur la structure et sur la production, par les filaments, dans certaines conditions, d'articles que l'on peut considérer comme des spores, veulent en faire des Mucédinées, et les classer dans le genre *Oospora* de Wallroth (2). Ce genre, véritable *caput mortuum*, contenait déjà des êtres pas mal dissemblables, placés là par les classificateurs pour se débarrasser de types gênants à classer ; on y a réuni, en particulier, pas mal de formes de l'ancien genre *Oidium*, des anciennes *Torulas*, êtres absolument différents, il faut le reconnaître, des formes qui nous occupent ici. De tels rapprochements sont à rejeter catégoriquement.

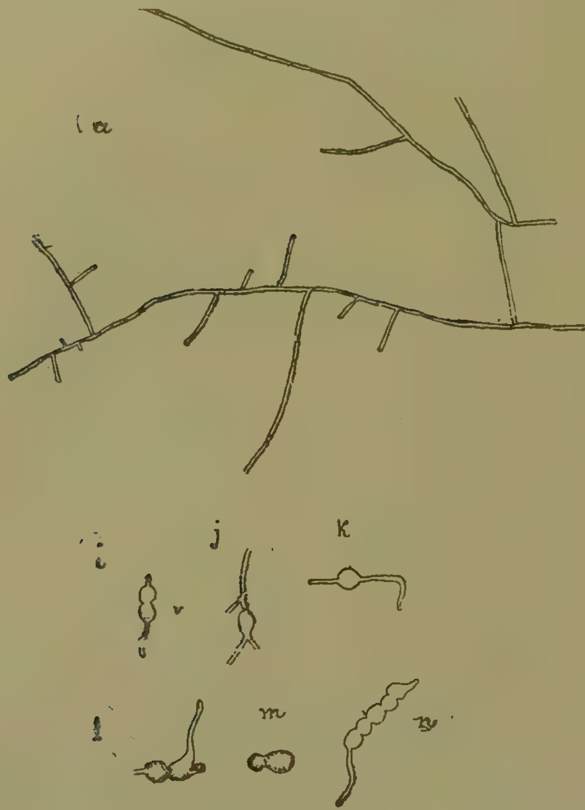


Fig. 336. — Formes diverses d'un *Cladothrix*.

Gasperini (3) a proposé le nom générique d'*Actinomyces*, qui pourrait aussi parfaitement convenir.

Le genre *Cladothrix*, conçu comme il vient d'être dit, peut se caractériser de la façon suivante : Ce sont des Bactéries filamenteuses, à éléments droits ou sinueux, dépourvus de gaine, produisant latéralement des ramifications disposées d'une façon irrégulière ; dans certaines conditions, les filaments se segmentent en très courts bâtonnets ou en articles sphériques ou ovoïdes que l'on doit probablement considérer comme arthrospores.

La première espèce connue est celle décrite par Cohn sous le nom de *Streptothrix Foersteri*. D'autres furent ensuite rencontrées dans l'air par Miquel (4) qui n'en reconnut pas la véritable nature, dans l'eau par moi (5) où je les avais étudiées, pour ne rien préjuger, sous la désignation de *Cladothrix dichotoma*. Toute une série d'autres espèces ont été isolées de l'air par Gasperini (6) et Rossi-Doria (7). Au début, on les

(1) Sauvageau et Radais, Sur les genres Cladothrix, Streptothrix, Actinomyces, et description de deux Streptothrix nouveaux (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VI, 1892, p. 242).

(2) Wallroth, Flora Cryptogamica Germaniæ, II, 1833, p. 182.

(3) Gasperini, Ricerche morphologiche e biologiche sul genere Actinomyces Harz (*Ann. d'Igiene sper.*, II, 1892, p. 167).

(4) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère, 1882.

(5) Macé, Sur les caractères de cultures du *Cladothrix dichotoma* (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 1888).

(6) Gasperini, Recherches morphologiques et biologiques sur un microorganisme de l'atmosphère, le *Streptothrix Foersteri* (*Ann. de micr.*, 1890, p. 449).

(7) T. Rossi-Doria, Su di alcune specie di Streptothrix trovate nell' aria (*Ann. d'Igiene sper.*, I, 1892, p. 99).

considérait comme de simples saprophytes. Plus tard, l'étude de la morphologie et des cultures a permis d'en rapprocher certains organismes nettement pathogènes, celui de l'actinomycose dont j'ai signalé le premier les nombreuses affinités avec eux, celui du farcin du bœuf de Nocard, du pied de Madura de Vincent. Aujourd'hui, tous ces organismes, qu'on les dénomme comme on voudra, semblent former un groupe bien homogène qui doit avoir sa place marquée parmi les Bactéries. Ils ont, du reste, avec des types indiscutables, des points de contact sur lesquels on commence à insister; le *Bacille de la tuberculose*, le *Bacille de la diphtérie*, entre autres, nous l'avons vu, peuvent présenter des éléments nettement ramifiés; bien des caractères de cultures peuvent être très voisins.

Les espèces de ce groupe sont très répandues dans la nature; elles abondent dans l'air, l'eau, le sol surtout, à la surface du corps, des muqueuses et particulièrement de la muqueuse des voies digestives antérieures, dans la bouche surtout.

Le rôle qu'elles jouent est encore bien peu déterminé. On peut penser que ce sont des agents énergiques de décomposition de la matière organique dans le sol; elles doivent avoir une part très importante dans la formation des composés ulmiques, comme le démontrent l'action qu'elles exercent sur pas mal de tissus et produits végétaux et l'odeur intense de terreau que développent certaines espèces.

Certaines ont une action pathogène manifeste; elles déterminent d'ordinaire des affections à marche lente, chronique, ressemblant parfois à la tuberculose.

Leur morphologie est encore peu élucidée; cependant les observations de Sauvageau et Radais et surtout leurs cultures en cellules ont déjà fait connaître des points intéressants, portant surtout sur la production des rameaux latéraux, la formation et la germination des spores.

CLADOTHRIX CHROMOGENES Gasperini.

(*Streptothrix chromogenes de Gasperini, Streptothrix nigra de Rossi-Doria, Oospora Metschnikowi de Sauvageau et Radais.*)

Atlas de microbiologie, pl. XXXVI.

Cette espèce se rencontre fréquemment dans les analyses bactériologiques d'eau ou d'air.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les filaments ont une largeur d'environ 0,4 μ et une longueur beaucoup plus grande; certains peuvent atteindre 1 millimètre et plus. Ils sont immobiles et enchevêtrés les uns dans les autres. D'ordinaire, ils sont droits ou faiblement sinueux; parfois, on les trouve assez régulièrement ondulés dans une certaine étendue; ils peuvent même simuler des formes spirillaires (fig. 337, *b*, *c*, *d*).

Leur contenu est tout à fait hyalin; souvent homogène dans toute son étendue, il peut paraître segmenté, donnant l'illusion d'une cloison.

Les ramifications latérales ne sont pas régulièrement distribuées, mais paraissent disséminées sans ordre (fig. 337, *a*). Les rameaux naissent, sur les côtés du filament mère, sous forme d'une petite hernie latérale qui grandit et donne un court prolongement cylindrique de même largeur que le filament mère et restant exactement perpendiculaire à lui tant qu'il n'a pas atteint une assez grande longueur. En grandissant, ils se rapprochent presque toujours du filament mère, avec lequel ils ne forment plus qu'un angle aigu. Sur un même filament, il est facile d'observer toute une série de ces rameaux latéraux à différents états de développement et de suivre ainsi une partie des transformations, depuis le simple bourgeon jusqu'à un rameau d'une grande étendue. Il ne semble y avoir aucune règle pour la disposition des rameaux secondaires sur les filaments mères; on peut n'en trouver que d'un seul côté, ou des deux en alternance irrégulière, ou sur toute la surface.

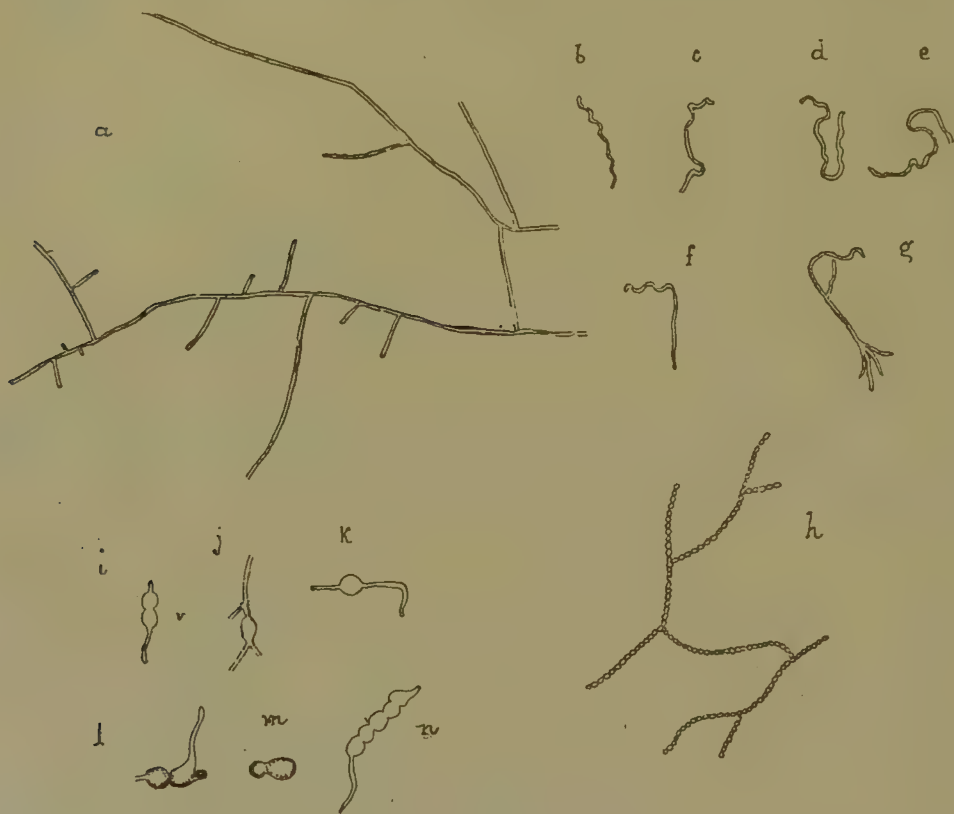


Fig. 337. — *Cladothrix chromogenes*. 900/1.

a, portion de filament ramifié ; *b*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, parties de filaments diversement contournées ; *h*, filament segmenté en arthrospores; *i*, *j*, *k*, *l*, *m*, *n*, formes anormales, formes d'involution.

Dans certaines conditions, les filaments se segmentent et produisent de longues séries d'articles sphériques ou ovoïdes que l'on peut considérer comme des arthrospores (fig. 337, *h*). Ces spores se produisent surtout dans les cultures sur les milieux solides, seulement au contact direct avec l'air. Sauvageau et Radais en ont suivi le développement dans des cultures en cellules. Elles germent après vingt-quatre heures environ, à 35°, et donnent un ou deux filaments qui ne tardent pas à se ramifier et à prendre l'aspect habituel; le développement se fait dans

tous sens et la colonie prend la forme étoilée si commune dans les jeunes mycéliums de Champignons.

Les vieilles cultures en milieux liquides ou sur pomme de terre présentent fréquemment des renflements, sphériques ou ovoïdes, irréguliers, terminant des filaments ou pouvant se trouver sur leur parcours; ces formes, que certains auteurs ont considérées comme des sporanges, ne représentent autre chose que ce que l'on désigne chez les Bactéries sous le nom de formes d'involution (fig. 337, *i*, *j*, *k*, *l*, *m*, *n*).

Coloration.

Les filaments et les arthrospores se colorent bien aux méthodes ordinaires et *restent colorés* par la méthode de Gram ; souvent des portions plus ou moins grandes de filaments résistent à la coloration. On n'observe jamais de coloration bleue par l'iode ou le chlo ro-iodure de zinc.

Cultures.

L'espèce se cultive très bien sur les milieux habituels, solides ou liquides. Le développement est rapide à l'étuve, mais bien marqué encore, quoique plus lent, à la température ordinaire ; il se fait surtout en présence d'air.

Cultures sur plaques de gélatine. — Les colonies apparaissent assez tardivement, vers le quatrième ou le cinquième jour, comme de très petits points d'un blanc jaunâtre, entourés d'une auréole brune qui se perd dans la gelée ambiante. Cette auréole, qui peut atteindre 1 ou 2 millimètres, les fait facilement reconnaître. Vues au microscope, à un grossissement moyen, elles ont un aspect bien constant et caractéristique. D'une partie centrale, sombre, épaisse, granuleuse, partent de nombreux filaments radiaires, donnant l'aspect d'une houppe sphérique, à éléments serrés, très fine et très élégante. Ces filaments ne s'étendent que très peu dans la gelée ambiante. Les colonies qui restent dans la gelée ne dépassent guère 1 millimètre et demi de diamètre et gardent très longtemps leurs caractères premiers. Celles qui arrivent à la surface de la gelée y forment un petit bouton grisâtre, recouvert parfois d'une efflorescence blanche. L'auréole brune s'étend un peu et fonce en couleur. Il se forme une dépression autour de la colonie et la gélatine se liquéfie lentement, mais pas sur une bien grande étendue.

Cultures sur gélatine. — En *piqûre* dans la gélatine, il se forme dans le canal de petites colonies blanchâtres, floconneuses, où l'on reconnaît, même à l'œil nu, une vague disposition radiaire ; à la surface, il peut se former un petit bouton grisâtre qui se durcit, se ride, se plisse. Cette sorte de pellicule est très compacte ; on l'enlève d'un bloc avec le fil de platine. La gelée brunit fortement à la surface. La liquéfaction se fait très lentement ; les colonies tombent alors au fond du liquide brunâtre, très limpide, et peuvent se développer en gros flocons comme dans le bouillon, ou en nombreux petits flocons ronds qui adhèrent aux parois du vase.

Cultures sur gélose. — Sur gélose glycérinée surtout, vers 35°, on observe assez vite la formation d'une peau assez épaisse, luisante, grisâtre, très adhérente au substratum, de telle sorte que, lorsqu'on en pré-

lève une parcelle, il faut emporter un morceau de gelée. Les colonies isolées ont une grande tendance à former des cercles. A un certain moment, la culture se recouvre, en totalité ou en partie, d'une efflorescence blanche, sèche, très friable, formée de nombreux chapelets d'éléments ronds donnés comme arthrospores. La gelée est fortement colorée en brun.

Cultures sur pomme de terre. — Il s'y forme rapidement, à l'étuve, une pellicule assez étendue, grise ou gris jaunâtre, plissée, assez épaisse, consistante, gagnant progressivement toute la surface; elle se recouvre d'une efflorescence blanche formée de filaments entièrement segmentés en arthrospores. La substance du tubercule est lentement attaquée et consommée par le développement de la Bactérie; après un assez long temps, la pomme de terre est transformée en une petite masse d'un brun noir, légère et friable, à réaction fortement alcaline.

Cultures dans le bouillon. — Il s'y développe de légers flocons blanchâtres, où la disposition radiaire est évidente. Ces flocons grandissent assez vite en étuve; ils atteignent parfois plus de 1 centimètre de diamètre. Le liquide reste clair et prend une teinte brune.

Cultures dans le lait. — Le développement se fait dans les couches superficielles qui brûnissent. Il ne se fait pas de coagulation. Le milieu est alcalin.

Propriétés biologiques.

Dans les milieux azotés, on observe toujours une formation notable d'ammoniaque.

Les cultures dégagent une odeur intense et pénétrante qui tient à la fois de l'odeur de moisi et de l'odeur du terreau. Cette odeur peut manquer; il n'y a pas lieu d'établir sur sa présence ou son absence une coupe spécifique et de nommer les échantillons odorants *Cladothrix odorifera*, comme l'a proposé Rullmann (1).

Il se produit, sur bien des milieux, une matière colorante brune.

Les vieilles cultures dans le bouillon contiennent des produits solubles toxiques pour les grenouilles (Legrain).

Les cultures gardent très longtemps leur vitalité; dans une expérience, nous avons vu un abondant développement avec une culture conservée depuis plus de sept ans.

Habitat et rôle dans la nature.

Cette espèce est très répandue dans l'air, dans les eaux et surtout dans le sol; la terre végétale en contient souvent en abondance.

Elle paraît être une espèce saprophyte inoffensive pour l'homme et les animaux qui souvent en absorbent beaucoup avec l'eau de boisson. Dans l'eau, elle provient très probablement du sol; aussi la rencontre-t-on surtout dans les eaux qui ont été en contact avec les couches superficielles du sol cultivé, les eaux de drainage surtout.

(1) Rullmann, Chemische bakteriologische Untersuchungen von Zwischendeckenfüllungen mit besonderer Berücksichtigung von Cladothrix odorifera. Thèse de Munich, 1895. — *Id.*, Weitere Mittheilungen über Cladothrix odorifera (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., II, 1896, p. 116 et 701).

Cette espèce, ou d'autres similaires, peuvent déterminer dans certains cas la précipitation du fer que contient l'eau, sous forme d'oxyde de fer qui se fixe dans la membrane et la teint en brun plus ou moins foncé. Dans le même ordre d'idées, il est très probable qu'il faut leur attribuer une grande part dans la formation des concrétions calcaires ou les dépôts ferrugineux qui se déposent dans les tuyaux de conduite de certaines eaux et peuvent en diminuer singulièrement le diamètre; la colonie filamenteuse s'accole aux parois, comme on le voit souvent dans les cultures, et détermine, autour de ses longs éléments, la précipitation du calcaire ou du fer de l'eau de la même manière que le *Leptothrix buccalis* occasionne la précipitation des sels de chaux de la salive et la formation du tartre dentaire.

Cette espèce doit jouer un rôle très important dans les processus de transformation de la matière organique dans le sol et en particulier dans la formation de ces composés encore peu connus désignés sous le nom de *produits ulmiques* ; ce serait un des agents de la production d'*humus* aux dépens des matières végétales mortes.

CLADOTHRIX FOERSTERI.

(*Streptothrix Foersteri de Cohn.*)

Cohn (1) a rencontré cette espèce dans de petites concrétions blanches, onctueuses, du canal lacrymal. Elle a été retrouvée dans les mêmes conditions par plusieurs observateurs et bien étudiée surtout par Gombert (2).

Dans ces concrétions, comme du reste dans les cultures, les éléments sont de longs filaments rectilignes, souvent ondulés ou même irrégulièrement spiralés; ils sont pelotonnés et forment un lacis serré. Leur diamètre, égal partout, est de 0,5 μ à 0,6 μ. Dans certaines conditions, ces filaments se segmentent en arthrospores arrondies, de 0,8 μ de diamètre. Tous les éléments se colorent facilement aux couleurs d'aniline.

Les cultures s'obtiennent sur les différents milieux et ressemblent beaucoup à celles de l'espèce précédente, sauf qu'elles ne montrent pas la coloration brune du milieu signalée plus haut.

Sur *plaques de gélatine*, les colonies forment de petites sphères blanchâtres à l'œil nu, noirâtres à un faible grossissement, montrant à leur périphérie de nombreux poils courts, raides et irréguliers.

Sur *gélatine* en piqûre, il se forme, le long du trait d'inoculation, de petites sphères blanches qui peuvent atteindre 2 millimètres; elles ressemblent, ainsi que la colonie de la surface, s'il s'en développe, aux colonies décrites sur les plaques.

Sur *gélose*, il se produit, le long de la strie, de petites colonies rondes qui peuvent confluer et former une sorte de pellicule mamelonnée, puis plissée, grisâtre. Les colonies ou la pellicule se recouvrent à un moment donné, dans toute leur étendue ou par places seulement, d'une efflorescence blanche, crayeuse, formée par les spores.

(1) Cohn, *loc. cit.*, p. 1024.

(2) Gombert, Recherches expérimentales sur les microbes des conjonctives à l'état normal. Thèse de Montpellier, 1889.

La *pomme de terre* se recouvre vite d'une culture devenant crayeuse. La substance du milieu est beaucoup moins modifiée qu'avec l'espèce précédente. Il y a formation de sucre aux dépens de l'amidon, comme on peut s'en assurer avec la liqueur de Barreswil.

Dans le *bouillon*, il se forme de petites sphères grisâtres qui tombent lentement au fond du liquide. Ce microbe végète dans l'eau stérilisée presque aussi bien que dans le bouillon.

L'odeur de moisi est encore plus intense qu'avec l'espèce précédente.

Les divers essais tentés avec ce microbe sur l'œil de chiens, cobayes, lapins, n'ont donné aucun résultat. L'espèce n'est probablement pas la cause de l'occlusion des canaux lacrymaux ; la formation des concrétions n'en est plutôt que la conséquence, le microbe se cultivant pour ainsi dire dans les larmes devenues stagnantes.

Le *Streptothrix alba* de Rossi-Doria (*Oospora Guignardi* de Sauvageau et Radais) est peut-être à identifier avec cette espèce. On rencontre souvent de telles formes dans la bouche de l'homme, fréquemment dans les examens bactériologiques des produits suspects de diphtérie. Il existe du reste probablement plusieurs espèces à caractères voisins, donnant des colonies blanches ne brunissant pas la gélatine ou d'autres milieux.

Kedzior (1) a isolé d'eau d'égout ou d'eaux stagnantes un *Cladothrix blanc* qui est un véritable microbe thermophile. Il se cultive au mieux, en aérobie ou en anaérobie, à la température de 55° et peut encore végéter à 65 degrés.

C'est peut-être de cette espèce que l'on doit rapprocher la plupart des microbes décrits comme *Streptothrix* ou *Cladothrix pathogènes* pour l'homme. On en a rencontré dans des manifestations pathologiques assez diverses. Ferré et Faguet (2) en signalent dans le pus d'un abcès du cerveau ; Buchholtz (3) dans un cas de gangrène pulmonaire ; Rullmann et Perutz (4) dans diverses manifestations pulmonaires. Sabrazès et Rivière (5) ont trouvé un de ces microbes dans un abcès du cerveau et des abcès miliaires consécutifs à une infection pleuro-pulmonaire ; celui-ci, toutefois, donne un pigment brunâtre et se rapprocherait plutôt de l'espèce précédente. Il est probable qu'un certain nombre des lésions décrites comme *pseudo-actinomycoses* sont dues à de ces mêmes *Cladothrix blancs* (Voy. p. 1089).

Le *Streptothrix* isolé par Sabrazès et Joly (6) du vaccin de génisse peut également s'en rapprocher.

(1) KEDZIOR, Ueber eine thermophile Cladothrix (*Arch. für Hygiene*, XXVII, 1896, p. 328).

(2) FERRÉ et FAGUET, Sur un abcès du cerveau à *Streptothrix* (*Sem. méd.*, 1895).

(3) BUCHHOLTZ, Ueber menschen pathogene Streptothrix (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIV, 1897, p. 470).

(4) RULLMANN et PERUTZ, Ueber eine aus Sputum isolierte pathogene Streptothrix (*Münch. med. Wochenschr.*, 1898, 19 juillet, et 1899, nº 13, p. 407).

(5) SABRAZÈS et RIVIÈRE, Les parasites du genre *Streptothrix* dans la pathologie humaine (*Congrès de méd. de Bordeaux*, 1895).

(6) SABRAZÈS et JOLY, Sur un nouveau *Streptothrix* fréquemment isolé du vaccin de génisse (*Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898).

CLADOTHRIX ASTEROIDES Eppinger.

Eppinger (1) l'a isolé d'un abcès du cerveau, chez un homme mort de méningite cérébro-spinale ; le pus ne renfermait que ce seul microbe.

Les filaments ont 0,2 μ de largeur et ne produisent pas de spores ; ils se segmentent facilement en segments assez courts.

La *gélatine* n'est pas liquéfiée ; la culture, un peu jaunâtre, ne se fait qu'à la surface.

Sur *gélose*, il se forme des colonies blanchâtres, verruqueuses, devenant ocracées avec l'âge et confluant en une pellicule plissée.

Sur *sérum*, la culture ressemble à la précédente ; le milieu n'est pas liquéfié.

Le *lait* n'est pas du tout modifié.

Le *bouillon* n'est pas trouble ; il se forme à la surface de petites écailles blanchâtres qui se déposent lentement.

Sur *pomme de terre*, il se forme de petites colonies verruqueuses blanches, puis rouge-brique.

D'après Eppinger, ce microbe est pathogène pour le lapin et le cobaye. A la suite d'inoculations intraveineuses, intrapéritonéales ou même sous-cutanées de cultures pures, il se développe, de cinq jours à un mois, une sorte de *pseudo-tuberculose* de tous les organes. Les petits nodules observés se caséifient par la partie centrale où se trouvent des filaments de *Cladothrix*. Les souris lui ont paru réfractaires. La virulence des cultures doit se perdre facilement ; Rossi-Doria les a trouvées inoffensives pour le lapin et le cobaye, quel que soit le mode d'inoculation.

CLADOTHRIX HOFFMANNI Gruber.

(*Micromyces Hoffmanni de Gruber.*)

Cette espèce est très mal connue ; elle a été isolée de l'air à Vienne (2).

Les filaments présentent fréquemment des renflements à leurs extrémités.

Les cultures se font au mieux à l'air, mais aussi en anaérobie en présence de glucose. Le développement ne se fait pas au-dessous de 22 degrés.

Les meilleurs milieux sont ceux additionnés de 1 à 3 p. 100 de glucose.

On n'observe rien sur pomme de terre et gélatine.

Aux dépens du sucre il se forme de l'acide acétique et un peu d'alcool.

Chez le lapin, en injection sous-cutanée, les cultures déterminent la formation d'abcès dans le pus desquels se rencontrent des formations rappelant les nodules de l'Actinomycose.

(1) Eppinger, Ueber eine neue pathogene Cladothrix (*Ziegler's Beitr. zur path. Anat.*, IX, 1890, p. 287).

(2) Gruber, Eine neue pathogene Microbienart, Micromyces Hoffmanni (*Congrès d'hyg. et de dermogr. de Londres*, 1891).

CLADOTHRIX ACTINOMYCES

(*Actinomyces bovis.*)

ATLAS DE MICROBIOLOGIE, PL. XXXVIII ET XL.

Ce parasite a été signalé en 1875, par Rivolta (1) et Perroncito (2), dans les tumeurs assez singulières de la mâchoire du bœuf, que les vétérinaires désignent sous le nom d'*ostéo-sarcome du maxillaire*. Bollinger (3) et Harz (4), peu après, précisèrent la description du microbe en question, que ce dernier dénomma *Actinomyces* (ἀκτίσ, rayon ; μυκης, champignon) à cause de la disposition rayonnée que prennent les éléments dans les productions pathologiques où on les rencontre. Ces formes étaient connues auparavant ; il faut certainement leur rapporter les *concrétions cristalloïdes du pus*, figurées par Lebert (5) dans son *Atlas* et par Charles Robin (6) dans son *Traité du microscope*.

Aussitôt après, la présence du même parasite fut signalée chez l'homme par Israel (7) et Langenbeck. C'était, du reste, chez l'homme que l'avaient rencontré Lebert et Robin.

Le parasite attaque un assez grand nombre d'animaux, exclusivement des herbivores ou des omnivores. L'affection qu'il occasionne, l'*actinomycose*, s'observe surtout chez les bovidés ; fréquente dans certaines régions, elle est rare ou inconnue dans d'autres. On l'observe communément à Nancy et dans les campagnes environnantes. Son siège est variable et dépend très probablement du mode d'infection. Le parasite paraît surtout pénétrer par l'appareil digestif, par la peau, par les voies respiratoires. Le porc est rarement atteint ; le cheval et le mouton plus rarement encore. Chez le bœuf, c'est le maxillaire inférieur qui est le plus souvent envahi. Il s'y forme des tumeurs souvent énormes qui renferment les éléments du parasite au milieu d'une masse de tissu embryonnaire. Sur la coupe de la tumeur, on a l'aspect tantôt d'un fibrome, tantôt d'un sarcome fibreux, plus rarement d'un sarcome mou embryonnaire. L'os est souvent envahi et désagrégé, d'où ce nom d'*ostéo-sarcome*. L'apparence de la tumeur varie toutefois suivant qu'elle se développe aux dépens de la moelle de l'os ou aux dépens du périoste. Il se forme, dans sa masse, de petits foyers purulents, qui peuvent déverser leur contenu au dehors au moyen d'un ou de plusieurs trajets fistuleux. L'aspect du pus est variable. Il est tantôt crémeux, de bonne nature ; le plus souvent, il contient une forte proportion de grumeaux

(1) RIVOLTA, Sarcoma fibroso al' bordo inferiore della branca inferiore sinistra del bove (*Medico veterinario*, 1868. — *Giornale di anat. e di fisiol. degli animali*, 1875).

(2) PERRONCITO, Osteosarcoma della mascella nei bovini (*Encycl. agraria italiana*, VIII, p. 569, 1875).

(3) BÖLLINGER, Ueber eine Pilzkrankheit vom Rinde (*Centralbl. für med. Wochenschr.*, 1877, p. 481).

(4) HARZ, Actinomyces bovis (*Jahresb. der königl. Central. Thierarzneischule zu München*, 1858).

(5) LEBERT, Traité d'anatomie pathologique générale, 1857, in folio avec planches.

(6) Charles ROBIN, Traité du microscope, 1871.

(7) ISRAEL, *Virchow's Archiv*, 1879.

consistants, d'un jaune-soufre ou un peu brunâtres ; ou bien il est visqueux, opalescent, de consistance gélatineuse.

Le microbe envahit aussi assez souvent la langue, y déterminant de nombreuses nodosités qui s'ulcèrent et suppurent. Il se forme alors des cicatrices fibreuses, qui rendent la langue dure et déformée, d'où le nom de *langue de bois* (Holzzunge), donné à cette variété.

On peut enfin trouver de ces tumeurs, mais moins fréquemment, dans le pharynx, le larynx, l'estomac, l'intestin, le foie, les mamelles, le poumon, la peau et même les muscles. L'aspect des lésions peut faire croire à la tuberculose, mais l'examen microscopique lève les doutes.

De nombreuses observations d'actinomycose chez l'homme ont été rapportées depuis les premières. Cette maladie paraît surtout commune en Allemagne et en Autriche, plus rare en France où elle doit être cependant bien souvent encore méconnue et où on la rencontre plus souvent à mesure que l'attention est attirée sur le parasite. Elle se présente sous forme d'abcès affectant des régions très diverses. Ces abcès, variant considérablement de volume, contiennent un pus souvent séreux, parfois caséeux, où se rencontrent de nombreux grains jaunâtres, assez durs, identiques à ceux que l'on rencontre chez les animaux.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — L'aspect varie considérablement suivant que l'on a à examiner du produit de lésions d'actinomycose développées chez l'homme ou chez l'animal, ou des produits de cultures du microbe. Dans les lésions, surtout le pus actinomycosique, le parasite se rencontre sous forme de petits grains du volume d'un grain de pavot à celui d'un grain de millet, ayant une structure tout à fait caractéristique ; dans ses cultures, on n'observe que des formes filamenteuses ramifiées, en tout semblables à ce que nous avons vu chez les autres *Cladothrix*, et, à certains moments, la production d'arthrospores, identiques aussi à ce qui a été décrit pour ces dernières espèces.

Pour observer la première forme du parasite, il suffit d'isoler un des grumeaux gris jaunâtre qui sont souvent abondants dans le pus, et de l'écraser modérément sous la lamelle couvre-objet. Lorsque le pus est très épais et les foyers de petites dimensions, on peut, pour arriver à isoler les grains, étendre le pus en couche mince sur une lame de verre ; les grains se reconnaissent alors facilement. D'autres fois, les grains sont rares et petits et deviennent alors difficiles à constater. Pour les pus très visqueux, il faut même parfois faire agir une solution de potasse à 40 p. 100 qui éclaircit la masse et respecte l'*Actinomyces*. Les coupes des tissus atteints donnent les mêmes résultats.

On reconnaît alors à ces grains la forme très typique représentée ci-contre (fig. 338).

Chacune des granulations est formée par la réunion en disposition rayonnée des éléments du parasite. La forme de ces éléments varie d'après leur situation. La zone périphérique de la granulation actinomycosique est constituée par des éléments en forme de massue allongée,

dont la grosse extrémité arrondie est tournée vers le dehors, tandis que la partie effilée regarde le centre. La longueur ordinaire de ces massues est de 15 à 20 μ, certaines atteignent jusqu'à 80 μ ; leur plus grande largeur est de 8 à 10 μ. L'extrémité effilée mesure à peine 1 μ à sa pointe. Ces éléments sont souvent simples (fig. 338 ; *2*, *3*) ; d'autres fois ils sont rameux et présentent deux, trois, quatre branches, tantôt presque semblables, tantôt fort inégales (fig. 338 ; *4*, *5*, *6*). Les massues peuvent même présenter des étranglements, qui les rendent moniliformes (fig. 338 ; *7*, *9*). La partie centrale est constituée par un feutrage de filaments qui sont la continuation de la partie effilée des massues, auxquels se mêlent des éléments ronds de 7 à 10 μ de diamètre moyen, dont l'aspect rappelle celui des massues (fig. 338 ; *8*, *9*, *10*). Les filaments de la partie centrale émettent des ramifications latérales, tout comme les filaments typiques des *Cladothrix*.

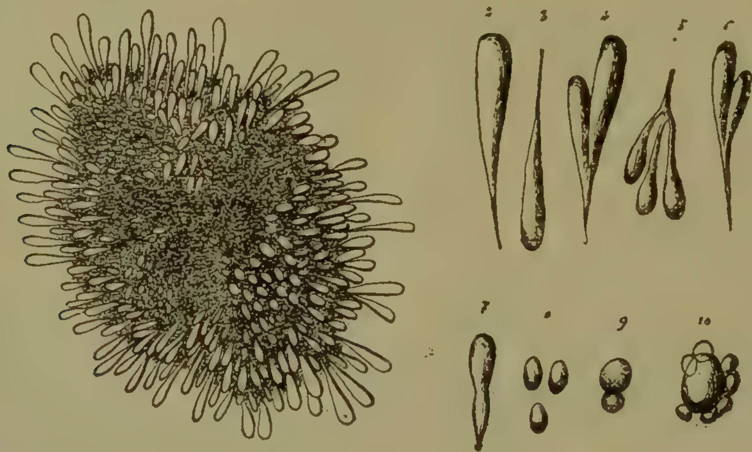


Fig. 338. — *Actinomyces* d'une tumeur du maxillaire inférieur d'un bœuf.

1, une granulation entière, 500/1 ; 2, 3, 4, 5, 6, 7, formes diverses des éléments en massue ; 8, 9, 10, éléments arrondis. 1200/1.

La nature de ces massues a été très discutée. Certains ont voulu, à tort certainement, en faire des corps reproducteurs. Il paraît préférable de se rallier à l'opinion de Bostrom (1), qui considère ces renflements comme des produits de dégénérescence des parties terminales des filaments. On trouverait, en effet, toujours, dans l'axe de la massue, l'extrémité d'un filament. La membrane externe de cette partie de filament pourrait produire, dans des circonstances spéciales, en particulier à la suite d'un développement dans des tissus résistants, une série de couches concentriques d'une matière amorphe, vitreuse, se colorant mal aux réactifs, qui, par leur superposition, donneraient les formes observées. Dans des conditions de développement libre, dans les cultures surtout, on n'observe pas la production de tels renflements.

On peut rapprocher de cette formation de massues le phénomène similaire qui s'observe chez d'autres espèces, le *Bacille de la tuberculose* (p. 507) et le *Bacille de la diphtérie* (p. 577) surtout ; c'est la

(1) Bostrom, Untersuchungen über die Actinomycose des Menschen (*Ziegler's Beitr. zur path. Anat.*, IX, 1890).

raison qui a déterminé certains auteurs à rapprocher tous ces types dans la classification (1). Toutefois, jusqu'ici, on n'en connaît pas la raison.

Dans l'actinomycose humaine, les massues sont souvent petites, très fragiles, les rosettes difficiles à constater. Il faut faire de nombreux examens successifs. Les grains s'écrasent et se dissocient très facilement; la seule pression légère du couvre-objet suffit pour les étaler; il faut éviter de les écraser. La pression fait facilement résoudre les filaments en bâtonnets droits ou courbés, parfois en formes arrondies.

Ces grains rayonnés d'actinomycose se calcifient souvent. Pour en reconnaître la nature, il faut alors les traiter au préalable par de l'eau légèrement acidulée à l'acide chlorhydrique ou à l'acide acétique.

Les filaments des cultures ressemblent en tout à ceux décrits précédemment pour les autres espèces (p. 1075). Leur largeur varie de 0,3 μ à 0,5 μ. Les ramifications s'y développent de la façon habituelle. On n'y constate jamais de massues véritables; on a seulement décrit, aux parties terminales des rameaux, dans certains cas, de petits renflements allongés qui pourraient rappeler, de loin, l'aspect des massues des grains actinomycosiques.

Des arthrospores se produisent dans certaines cultures, celles sur pomme de terre surtout, sous forme d'une efflorescence blanchâtre ou jaunâtre; elles germent en donnant de petits filaments qui se ramifient après peu de temps (2).

Coloration. — Les massues se colorent mal aux couleurs d'aniline. L'acide picrique, l'iode, les teignent en jaune. L'éosine ou la safranine les colorent en rose. Avec le picro-carmin, elles deviennent jaunes, tandis que les éléments des tissus voisins ou du pus se colorent en rose. Les filaments du centre se colorent, par contre, fortement au violet de gentiane et *restent colorés* après traitement par la méthode de Gram. En traitant alors par le picro-carmin et un colorant diffus, on peut obtenir de belles triples colorations; les filaments du centre de la granulation sont teints en violet foncé, les massues en rouge et les autres éléments en rose de picro-carmin. Les filaments des cultures se colorent facilement aux couleurs d'aniline et *restent colorés* par la méthode de Gram, qui donne ici de très belles préparations.

Cultures.

Le microbe végète bien sur les milieux habituels, soit en aérobie, soit en anaérobie. On ne réussit souvent pas facilement à l'obtenir en

(1) Coppen Jones, Ueber die Morphologie und systematische Stellung des Tuberkelpilzes und über die Kolbenbildung bei Aktinomykose und Tuberkulose (*Centralbl. für Bakt.*, XVII, 1895, p. 1 et 70).

(2) Gasperini, Ricerche morphologiche e biologiche sul genere Actinomyces Harz (*Ann. d'Igiene sper.*, II, 1892, p. 167). — Behla, Ueber die systematische Stellung des Erregers der Aktinomykose (*Centralbl. für Bakt.*, XXIII, p. 817). — Lubarsch, Zur Kenntniss der Strahlenpilze (*Zeitschr. für Hygiene*, XXXI, 1899, p. 187). — Lachner-Sandoval, Ueber Strahlenpilze. Thèse de Strasbourg, 1898. — Lévy, Ueber die Actinomycesgruppe und die ihr verwandte Bakterien (*Centralbl. für Bakt.*, XXVI, 1899, p. 1). — Hayo Bruns, Zur Morphologie des Actinomyces (*Centralbl. für Bakt.*, XXVI, 1897, p. 11). — Domec, Morphologie de l'*Actinomyces* (*Arch. de méd. expér.*, IV, 1892, p. 104).

cultures pures, parce qu'il est d'ordinaire accompagné de microbes pyogènes qui poussent plus rapidement que lui et arrêtent son développement. Sur quatre cas que j'ai étudiés, j'ai rencontré deux fois le *Micrococcus pyogenes aureus*, une fois le *Streptocoque pyogène* et une fois une espèce très voisine du *Bacillus pyogenes fœtidus*, sinon identique à lui. Le rôle que joue l'*Actinomyces* dans la production du pus n'est pas encore nettement démontré ; il ne fait peut-être que provoquer la formation d'un néoplasme, tandis que la suppuration serait sous la dépendance d'un des microbes pyogènes ordinaires. Dans les lésions pulmonaires, il paraît souvent être associé avec le *Bacille de la tuberculose*.

L'*Actinomyces* étant un anaérobie facultatif, Budjwid (1) conseille, pour l'isoler, de cultiver le pus, à l'abri de l'air, par une des méthodes usitées dans ce cas. On entrave la végétation des microbes pyogènes. Les colonies qui se développent peuvent être facilement isolées et donner, par ensemencement, de véritables cultures pures.

On peut aussi, avec avantage, laver plusieurs fois les grains dans de l'eau stérilisée avant de les ensemencer.

Les cultures semblent croître sur tous les milieux habituels, sur lesquels elles rappellent beaucoup, comme aspect, celles des autres *Cladothrix*. Elles conservent très longtemps leur vitalité.

Les cultures présentent souvent des variations très notables de forme et d'aspect. On a voulu les attribuer à l'origine de la semence et se baser sur elles pour établir des distinctions spécifiques. En faisant une grande quantité de cultures avec une même semence, on peut se convaincre, en voyant les différences dans les résultats obtenus, qu'il n'en est rien et qu'on se trouve alors en présence de différences toutes secondaires dues à des conditions encore inconnues.

Cultures sur gélatine. — Ce microbe liquéfie la gélatine, mais très lentement. Lorsqu'on ensemence par piqûre un tube de gélatine, on voit apparaître, en quelques jours vers 18°, dans la partie supérieure du canal, de petites colonies arrondies, floconneuses, d'un blanc jaunâtre. Ces colonies grandissent avec le temps et atteignent de 1 à 2 millimètres de diamètre. Le centre, plus opaque, est brunâtre, la partie périphérique plus blanche. Elles s'enfoncent peu à peu dans la gelée qui se fluidifie très lentement ; le liquide reste toujours clair.

Cultures sur gélose. — Sur gélose à 25°, la culture se développe vite. Il apparaît, en deux ou trois jours, le long de la strie, de petites taches opaques, blanchâtres ou d'un blanc jaunâtre. Ces colonies peuvent recouvrir en partie la surface libre et confluer même entre elles : elles restent alors petites, atteignent en moyenne 1 millimètre de diamètre. Ce sont de petites taches grises ou gris jaunâtre, fortement adhérentes à la gelée qui s'enlève d'ordinaire avec elles. Une partie de la colonie s'incruste toujours dans le substratum. Lorsqu'elles sont moins nombreuses, elles grandissent plus et atteignent 3 ou 4 millimètres de large. Leur surface se plisse et prend à la longue une teinte grise. Les colonies, en confluant, peuvent même former une pellicule feutrée, consistante. Celles qui se développent dans l'intérieur de la gelée sont bien moins

(1) Budjwid, Ueber die Reinkultur der Actinomyces (*Centralbl. für Bakt.*, VI, 1889).

denses et ont une apparence floconneuse. Dans les vieilles cultures, les colonies se recouvrent d'une efflorescence blanche, crayeuse. Les colonies et même l'efflorescence sont parfois colorées en jaune-citron.

Cultures sur sérum coagulé. — Il s'y développe de petites colonies rondes, assez bombées, isolées, qui prennent au bout d'un certain temps les caractères des petites colonies isolées sur gélose.

Cultures sur pomme de terre. — Sur pomme de terre, les colonies rappellent encore plus les colonies des autres *Cladothrix*. D'abord isolées, membraneuses, circulaires, elles confluent en une pellicule gris jaunâtre, qui se ride et se plisse fortement et se recouvre d'une efflorescence blanche ou un peu jaunâtre, parfois jaune-citron. La substance de la pomme de terre se colore en brun souvent très foncé.

Cultures dans le bouillon. — Il s'y développe des flocons blanchâtres, sphériques, en forme de houppes, souvent assez gros, qui tombent au fond du vase. Le liquide reste clair et ne change pas de nuance ou devient un peu roux.

Cultures dans le lait. — Le lait n'est pas coagulé, mais se peptonise lentement et devient transparent au bout d'un certain temps.

Propriétés biologiques.

La biologie de l'*Actinomyces* est très peu connue. La vitalité des cultures est assez grande et se conserve longtemps.

Dans les milieux albuminoïdes, il ne forme ni indol, ni hydrogène sulfuré. Dans les milieux sucrés, il ne développe pas de gaz et ne donne pas d'acide.

Le microbe ne paraît pas former de toxines, ou du moins, s'il en forme, c'est en quantité très minime et d'une façon extrêmement lente.

Le pigment formé dans les cultures paraît pouvoir être de nuance variable. C'est un caractère qui ne semble pas avoir assez d'importance pour servir à établir des distinctions spécifiques, comme l'a fait Gasperini qui décrit les trois espèces *Actinomyces bovis sulphureus*, *albus* et *luteo-roseus*.

Inoculation expérimentale.

L'inoculation expérimentale de produits d'actinomycose a donné le plus souvent des insuccès. Certains expérimentateurs ont cependant obtenu des résultats positifs. D'après Hlava et Honl (1), le cobaye serait l'animal de choix; l'inoculation par la peau ou intrapéritonéale de pus actinomycosique détermine des lésions absolument typiques montrant la structure caractéristique des grains d'actinomycose.

Habitat et rôle étiologique.

L'espèce n'a jamais été rencontrée dans les milieux naturels, autres que l'homme ou les animaux atteints d'affections actinomycosiques. Dans la transmission de ces affections, on a beaucoup incriminé les substances végétales, parce que plusieurs observations ont démontré

(1) Hlava et Honl, O Aktinomykose dil Pruni (*Acad. imp. François-Joseph*, 1893).

la formation de lésions d'actinomycose, chez l'homme ou les animaux, autour de tels produits, fragments de bois, glumes piquantes de Graminées, etc. La porte d'entrée du parasite paraît être surtout la voie intestinale. La maladie s'observerait surtout alors que les animaux vont au pâturage, et chez l'homme, au moment de la moisson et du battage des céréales. De nombreux renseignements cliniques viennent appuyer cette opinion de la transmission du contage par les végétaux.

Chez l'homme, l'Actinomycose peut déterminer des symptômes très variés (1). Le lieu d'inoculation influe du reste beaucoup sur ces différences. La marche peut en être rapide, ou plus souvent subaiguë même avec tendance à la chronicité. L'inoculation par la peau est rare. La maladie est fréquente à la face, surtout à la bouche où le point d'introduction est une dent cariée ou une lésion traumatique; bien des abcès dentaires paraissent être sous la dépendance de l'*Actinomyces*. Tous les points du tube digestif peuvent être atteints. L'actinomycose pulmonaire n'est pas rare et peut simuler la tuberculose ou une pneumonie chronique; l'examen microscopique des crachats, tels quels ou traités par la pancréatine (p. 544), peut faire reconnaître les massues caractéristiques. Les os sont plus rarement atteints chez l'homme que chez les animaux. Enfin, les muscles, le cerveau, les reins, la rate, la vessie ont été parfois reconnus envahis. On a vu précédemment la grande fréquence de l'association d'autres microbes (p. 1086).

Chez les animaux (2), l'actinomycose provoque des manifestations pathologiques tout aussi multiples et aussi variées. La plus connue est certainement l'actinomycose de la mâchoire inférieure du bœuf. L'actinomycose musculaire, rencontrée quelquefois, peut rendre la viande de boucherie dangereuse pour l'homme.

Le parasite ne produisant pas de toxine a une action exclusivement locale; les désordres produits sont dus à sa seule végétation, leur importance provient de l'intensité de la réaction du tissu envahi et des troubles provenant des modifications de l'organe attaqué.

La tumeur actinomycosique est le produit de la réaction de l'organisme contre le parasite. Les lésions ont été bien étudiées surtout par Boström, Pawlowsky et Maksutoff (3), Hoche (4).

Une spore ou un filament introduit à un endroit donné, propice pour son développement, donne une colonie filamenteuse à structure radiaire, comme les colonies des cultures, mais plus ou moins régulière selon les obstacles opposés à son extension. C'est souvent une sphère (*Drüse* de Boström). A la périphérie, au moment voulu, se forment les massues. C'est là la colonie primaire.

Tout autour s'observe une zone inflammatoire très nette, riche en cellules leucocytaires; le parasite détermine en effet une phagocytose intense. Ces cellules phagocytaires englobent aisément des fragments de parasites; dans beaucoup, en effet, on retrouve, par les colorations,

(1) Jirou, Contribution à l'étude de l'actinomycose en France. Thèse de Lyon, 1894. — Chrétien, De l'actinomycose humaine (*Sem. méd.*, 12 janvier 1895).

(2) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux, p. 591.

(3) Pawlowsky et Maksutoff, Sur la phagocytose dans l'actinomycose (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XII, 1898).

(4) Hoche, Histogenèse du nodule actinomycosique et propagation des lésions (*Arch. de méd. expér.*, septembre 1899).

des fragments de formes très diverses, des filaments simples ou ramifiés, des portions articulées, des formes en coccus (Boström), des massues. Dans certains des phagocytes, ces éléments sont en voie de dégénérescence certaine, comme le montrent les colorations à l'aide du violet de méthyle. Dans d'autres, au contraire, le parasite reste bien vivant ; c'est le leucocyte qui succombe et le parasite se développe dans son intérieur d'abord, puis au dehors. C'est là l'origine d'une colonie secondaire. On conçoit qu'il peut se former de la sorte, soit dans la région même, soit plus loin, une nombreuse série de colonies d'origine secondaire, par suite du transport de ces leucocytes parasites.

Ces leucocytes peuvent se fusionner plusieurs ensemble, donnant alors de véritables cellules géantes, mais en moins grand nombre que dans la tuberculose ; les cellules géantes n'ont pas un aussi grand nombre de noyaux.

Dans chacune de ces colonies formées, à un moment donné les filaments cessent de végéter, ils se renflent un peu à l'extrémité ; leur couche externe s'épaissit, forme une série de couches concentriques rappelant assez bien les couches concentriques des grains d'amidon ; les massues sont formées.

Il se forme ainsi un processus infectieux nodulaire rappelant ce qui se passe dans la tuberculose ou la morve.

La zone inflammatoire périnodulaire peut donner du tissu dur, fibreux, isolant et enkystant la tumeur ; c'est un processus favorable. Ou elle peut évoluer vers la suppuration, donner un abcès d'ordinaire assez spécial, s'infectant souvent secondairement.

Pour l'homme et les animaux, l'iodure de potassium semble être un véritable médicament spécifique.

On connaît (1) un certain nombre de cas de lésions suppuratives siégeant surtout à la face, rappelant de très près celles de l'actinomycose typique. Le pus renferme des grains jaunes, semblables à ceux de l'actinomycose, mais un peu plus gros et surtout plus friables, s'écrasant facilement sous le couvre-objet. Ils sont constitués par des filaments enchevêtrés, présentant des ramifications assez rares et quelquefois des arthrospores rondes, se colorant facilement aux couleurs d'aniline. Ce sont de véritables *pseudo-actinomycoses* (2) et non de l'actinomycose vraie (Voy. p. 1080). Les parasites appartiennent certainement au genre *Cladothrix*, peut-être à une ou plusieurs des espèces connues.

On peut penser que ces *mycoses à Cladothrix* seront plus fréquemment constatées maintenant que l'attention est plus attirée sur ce point ; bien des anciennes *mycoses à Leptothrix* doivent leur être rapportées.

Recherche et diagnostic. — L'examen microscopique pratiqué comme il a été dit (p. 1083) donne d'ordinaire facilement des renseignements exacts. Pour porter le diagnostic d'*Actinomyces*, il est nécessaire de constater la présence de massues ; les filaments seuls ne suffisent pas, pouvant tout aussi bien se trouver dans les pseudo-actinomycoses.

Il paraît nécessaire, chez l'homme au moins, de toujours rechercher le *Bacille de la tuberculose*, pour établir sérieusement un diagnostic et surtout le pronostic et le traitement.

(1) Dor, Nouvelle actinomycose à grains jaunes (*Gaz. hebd.*, 14 juin 1896).

(2) Berestneff, *Zeitschr. für Hygiene*, XXIX, 1898, p. 94. — Cozzolino, *Zeitschr. für Hygiene*, XXXIII, 1899, p. 36.

CLADOTHRIX MADURÆ Vincent.

(*Streptothrix Maduræ.*)

Altas de microbiologie, pl. xxix.

L'affection connue sous le nom de *Pied de Madura* a été surtout observée dans l'Inde ; Gémy et Vincent (1), Legrain (2) l'ont rencontrée en Algérie.

Elle débute généralement par un gonflement indolore des téguments du pied ; puis, à la surface, se développent de petites nodosités arrondies qui se ramollissent et peuvent s'ouvrir spontanément en donnant issue à du pus sanieux, contenant de petits grumeaux grisâtres, jaunâtres ou noirâtres. A cette phase, la lésion est douloureuse.

L'aspect des grains a fait rapprocher cette affection de l'actinomycose. Vincent (3), le premier, a fait une étude complète du parasite, l'a isolé et obtenu en cultures pures ; il a démontré que, bien que se rapprochant beaucoup de l'*Actinomyces*, il devait être tenu pour une espèce bien distincte.

A la couleur des grains, on a voulu distinguer cliniquement une variété *mélanique* à grains noirâtres, et une variété *pâle*, à grains blanchâtres, jaunes ou rougeâtres.

Morphologie.

Caractères microscopiques. — Les grains, pris dans le pus, ressemblent beaucoup aux grains d'actinomycose ; ils ont le volume d'un grain de semoule ou d'une grosse tête d'épingle. De consistance caséeuse, ils s'écrasent facilement par la pression.

Par écrasement et dissociation, ils apparaissent constitués en entier par de nombreux filaments ténus, intriqués. Ces filaments présentent des ramifications véritables, en tout analogues à ce que l'on rencontre chez les autres *Cladothrix*. Leur largeur est de 1 μ à 1,5 μ. A la périphérie des bouquets mycéliens et dans les points qui n'ont pas été dissociés par le mode de préparation, ils montrent une disposition manifestement rayonnée comme dans l'actinomycose ; mais on ne rencontre jamais de formes en massue, simplement, quelquefois, de petits renflements en bouton à l'une des extrémités ou sur leur parcours.

Dans les cultures, les filaments sont un peu plus grêles ; ils présentent le même aspect, parfois la même disposition rayonnée que ceux des grains précédents. Ils donnent des spores blanches à la surface de certains milieux.

(1) Gémy et Vincent, Affection parasitaire du pied analogue, sinon identique, à la maladie dite de Madura (*Ann. de derm.*, 1892).

(2) Legrain, Sur un nouveau cas de pied de Madura observé en Algérie (*Acad. de méd.*, 1er décembre 1896). — *Id.*, Sur quelques affections parasitaires observées en Algérie (*Arch. de parasit.*, I, 1898, p. 148).

(3) Vincent, Étude sur le parasite du pied de Madura (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VIII, 1894).

Coloration.

Le microbe se colore très bien aux couleurs basiques d'aniline; moins bien à la safranine et l'éosine. Il *reste coloré* par la méthode de Gram. L'iode le teint en jaune brun, l'hématoxyline en violet.

Cultures.

On obtient facilement des cultures en ensemençant des grains convenablement recueillis dans des milieux appropriés. Dans les nodules en suppuration, on rencontre souvent des microbes pyogènes en association, comme dans l'actinomycose.

Le développement se fait bien à la température ordinaire, mais l'optimum semble être vers 37° ; la multiplication s'arrête à 40°. La végétation est plus luxuriante lorsque l'air est abondant ; elle ne se fait pas à l'abri de l'air.

Cultures dans les infusions végétales. — Les infusions végétales non neutralisées, légèrement acides, sont les milieux les plus favorables pour la culture. On se sert avantageusement d'infusions de pomme de terre, de foin ou de paille, à 15 grammes pour un litre d'eau, non neutralisées, auxquelles on ajoute, pour une trentaine de centimètres cubes, une goutte de solution d'acide tartrique à 1 p. 500. La culture se fait dans un tube large ou dans un flacon d'Erlenmeyer pour permettre l'accès de l'air ; il est très bon d'agiter le vase tous les jours pour le même motif.

Après ensemencement d'un tel milieu, en quelques jours, il apparaît de petits flocons sphériques ou aplatis, grisâtres, qui se fixent sur les parois ou tombent au fond du vase. Ils grossissent peu à peu, surtout lorsqu'ils sont peu nombreux, et peuvent acquérir, en vingt ou trente jours, le volume d'un pois. Ceux qui restent adhérents au verre très près de la surface, et surtout ceux qui s'élèvent au-dessus du liquide en grimpant aux parois du verre, peuvent se colorer en rose ou en rouge à la longue. Le liquide ne se trouble jamais; il peut brunir un peu. Il devient légèrement alcalin. Parfois on le voit se couvrir d'une minime efflorescence blanche délicate, due à la formation de spores.

Cultures sur gélatine. — Il se forme dans le canal et à la surface une culture blanchâtre, peu abondante. La gelée n'est pas liquéfiée.

Cultures sur gélose. — La gélose glycérinée est préférable. Il se développe, à la surface, des colonies arrondies, assez saillantes, luisantes, blanchâtres d'abord, puis se colorant peu à peu en rose ou en carmin plus ou moins vif. La surface des colonies se plisse avec l'âge. Ces colonies sont très consistantes et très adhérentes au substratum.

Cultures sur sérum. — Vincent dit ne pas avoir obtenu de cultures sur sérum. Avec du produit de lésions, envoyé par Legrain, nous avons obtenu de très belles cultures sur sérum de cheval coagulé, semblables à celles qui se développent sur gélose, mais se colorant en rose clair ou même restant tout à fait blanches.

Cultures sur pomme de terre. — Il se forme, en trois ou quatre jours à 37°, de petites colonies sphériques, devenant irrégulières, mamelonnées, même crustacées à la longue. La coloration apparaît lentement et devient plus ou moins intense, probablement selon l'acidité

de la pomme de terre. Certaines colonies présentent une efflorescence blanche due à la formation de spores. La pomme de terre ne change pas de couleur.

Cultures dans le bouillon. — Le milieu est moins favorable que les infusions végétales. Le microbe s'y développe sous forme de sphérules floconneuses qui restent toujours petites et se déposent peu à peu au fond du vase. Le liquide reste clair.

Cultures dans le lait. — Le développement s'y fait bien : le lait n'est pas coagulé, mais se peptonise lentement.

Propriétés biologiques.

Bien peu de chose est connu. Les cultures ne dégagent pas d'odeur, comme le font beaucoup d'autres *Cladothrix*.

Une chaleur de 60° tue en quelques minutes les cultures qui ne contiennent pas de spores. Les spores résistent à 75° pendant cinq minutes et périssent en trois minutes à 85 degrés.

Les inoculations variées, faites à divers animaux, soit avec les cultures, soit avec des grains provenant des lésions humaines, n'ont jamais donné de résultats.

Il y a peut-être lieu de rapprocher de cette affection humaine des lésions similaires observées chez le cheval et le mulet, plus rarement chez les bovidés. Ce sont de petites tumeurs cutanées, situées à divers endroits du corps, qui s'ulcèrent et suppurent à un moment donné. On y rencontre de nombreux filaments mycéliens qui présentent bien les caractères des *Streptothrix* ou *Cladothrix*. Dans l'Inde, l'affection est désignée sous le nom de *bursattee*; aux États-Unis, sous celui de *Leeches* (1). Drouin et Rénon (2) l'ont probablement observée en France.

Les tentatives de cultures n'ont donné aucun résultat.

L'affection ne peut pas se communiquer à l'homme.

On peut cependant en rapprocher ce que Legrain a décrit chez l'homme, en Algérie, sous le nom de *mycose innominée*, sorte de pseudo-actinomycose du pied, où se rencontrent des filaments ramifiés, enchevêtrés, formant des grains friables, souvent terminés par des renflements en massue ; filaments simples et massues restent parfaitement colorés par la méthode d'Ehrlich.

CLADOTHRIX FARCINICA Nocard.

(*Bacille du farcin du bœuf de Nocard.*)

Atlas de microbiologie, Pl. xxix.

Le *farcin du bœuf* est une maladie chronique, rare actuellement en France après avoir été commune autrefois. Elle a été bien étudiée

(1) Fish, Leeches (*12th and 13th annual Reports of the Bureau of animal Industry*, Washington, 1899).

(2) Drouin et Rénon, Note sur une nouvelle mycose sous-cutanée innominée du cheval (*Soc. de Biol.*, 1896, p. 425). — Drouin, Sur une nouvelle mycose du cheval (*Rec. de méd. vét.*, 1896, p. 337).

par Nocard (1) en 1888, sur des pièces venant de la Guadeloupe où elle sévissait d'une façon intense.

L'affection est caractérisée par une inflammation suppurative des vaisseaux et des ganglions lymphatiques superficiels. Il se produit, surtout aux membres, des cordes indolores, insensibles, peu dures, qui suivent le trajet des veines superficielles. Quelquefois, sur leur trajet, il se forme de petits abcès qui ne s'ouvrent que rarement; par incision, on en fait sortir une matière blanchâtre, caséeuse, inodore.

La marche de la maladie est très lente; à la longue, l'animal maigrit et peut même mourir cachectique. A l'autopsie, outre les lésions constatées par l'extérieur, le poumon, le foie, la rate peuvent renfermer de nombreux noyaux à centre caséeux ou purulent.

Morphologie.

Caractères microscopiques et coloration. — Le pus renferme des éléments microbiens assez spéciaux, bien apparents surtout après coloration. Ils se colorent du reste bien aux couleurs d'aniline, restent *colorés* par la méthode de Gram lorsqu'on ne fait pas agir longtemps l'alcool, et restent toujours colorés par celle de Weigert.

Ce sont des filaments rameux, enchevêtrés, formant de petits amas d'apparence buissonnante. A un moment donné, ces filaments se segmentent en articles cylindriques, d'environ 2 μ de longueur. L'épaisseur est d'environ 0,25 μ. Les ramifications des filaments en font de vrais *Cladothrix*. Les faux tubercules que l'on rencontre dans les viscères présentent à leur centre une quantité de ces mêmes amas en forme de broussailles.

Toutes les cultures montrent la forme typique du microbe, l'aspect en broussailles des filaments. Par compression, les filaments se dissocient aussitôt en bâtonnets. Les vieilles cultures, surtout celles qui présentent l'efflorescence blanche, contiennent beaucoup d'arthrospores ovoïdes, se colorant difficilement.

Cultures. — Le microbe se cultive, en présence de l'air, sur tous les milieux liquides ou solides, entre 30° et 40°. Il est exclusivement aérobie.

On obtient facilement des cultures en ensemençant le pus d'abcès ganglionnaires. Ces cultures se font au mieux dans les milieux neutres ou alcalins, mais réussissent également, quoique moins bien, dans les milieux légèrement acides; la réaction du milieu ne se modifie pas par la culture.

Cultures sur gélatine. — La culture est très peu abondante. En piqûre, il se forme à la surface une petite colonie blanchâtre et presque rien dans le canal; la liquéfaction est très lente à se produire. Sur gélatine acide, la culture est un peu plus abondante, la liquéfaction plus rapide; le milieu prend une teinte brune.

Cultures sur gélose. — L'espèce y donne de petites colonies circulaires, saillantes, d'un blanc jaunâtre, opaques, ternes, qui peuvent confluer en une pellicule et se recouvrir d'une efflorescence blanche due aux spores.

(1) Nocard, Note sur la maladie des bœufs de la Guadeloupe connue sous le nom de Farcin (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, II, 1888, p. 293).

CULTURES SUR SÉRUM. — Sur sérum coagulé, la culture a même aspect que sur gélose ; elle reste plus humide.

CULTURES SUR POMME DE TERRE. — Il se forme des colonies circulaires, d'un gris jaunâtre, confluant en une pellicule verruqueuse ou plissée, se recouvrant vite d'une efflorescence blanche de spores.

CULTURES DANS LE BOUILLON. — Le microbe y donne des amas blanchâtres, irréguliers, tombant au fond du vase, ou flottant à la surface et y formant des taches lenticulaires d'un blanc sale, ne se laissant pas mouiller par le liquide. C'est surtout dans les bouillons glycérinés que cet aspect est bien net; la culture ressemble souvent à du bouillon gras dont les yeux se sont figés par refroidissement.

CULTURES DANS LE LAIT. — Le développement s'y fait sans produire de coagulation.

Inoculation expérimentale.

On obtient facilement l'infection chez le cobaye, le bœuf et le mouton, à l'aide des produits pathologiques ou des cultures ; le lapin, le chat, le cheval et l'âne sont réfractaires.

En injectant une petite quantité de produit virulent sous la peau d'un cobaye, on détermine la formation d'un abcès à cet endroit ; les ganglions voisins se prennent; il peut se former dans la région un phlegmon énorme ; l'animal guérit cependant. Par inoculation intrapéritonéale ou intraveineuse, on obtient des lésions qui rappellent tout à fait celles de la tuberculose miliaire ; dans le second cas surtout, tous les viscères sont farcis de faux tubercules qui contiennent le microbe avec son aspect en broussailles tout spécial. Les grands animaux résistent très longtemps ; on ne sait pas si les lésions produites chez eux occasionneraient la mort.

Les cultures conservent très longtemps leur vitalité et leur virulence.

CLADOTHRIX CAPRÆ Zschokke et Silberschmidt.

(*Streptothrix capræ.*)

Il a été rencontré dans le poumon d'une chèvre que l'on croyait atteinte de tuberculose (1). Les préparations du poumon ne montrèrent que quelques Bacilles très résistants aux agents de décoloration. Les cultures donnèrent un *Cladothrix* qui paraît être une espèce distincte.

Dans les cultures, le microbe est sous forme de filaments, plus ou moins longs, ramifiés, ou de bâtonnets courts. Les filaments se désagrègent très facilement. A la surface, peuvent se former des arthrospores, comme chez les espèces précédentes.

Tous les éléments sont immobiles. Ils se colorent médiocrement aux procédés ordinaires et *restent colorés* par la méthode de Gram.

Les cultures s'obtiennent facilement sur les milieux habituels en présence de l'air, pas ou presque pas à l'abri de l'air; elles viennent à la température ordinaire et mieux à 37 degrés.

Sur PLAQUES DE GÉLATINE, les colonies ont une partie centrale brune, sombre, et une partie périphérique plus claire formée de prolongements radiaires très fins. Elles ne liquéfient pas la gelée.

(1) SILBERSCHMIDT, Sur un nouveau Streptothrix pathogène, *Streptothrix capræ* (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XIII, 1899, p. 841).

Sur GÉLATINE EN PIQURE, les colonies sont floconneuses et forment à la surface une couche sèche, brunâtre.

Sur GÉLOSE, on obtient une culture sèche, verruqueuse, ratatinée, blanc brunâtre, qui se saupoudre d'une couche blanche, farineuse. Beaucoup de colonies sont d'abord proéminentes, puis se creusent en cratère.

Sur SÉRUM COAGULÉ, les colonies blanc brunâtre sont d'abord proéminentes, puis s'affaissent ; ou bien forment une mince couche sèche, brunâtre.

Sur POMME DE TERRE, la culture, d'abord mince et blanchâtre, devient proéminente et se colore en brun rosé ; les colonies isolées sont rondes, sèches, parfois cratériformes. La culture se saupoudre de blanc tardivement.

Dans le BOUILLON, les colonies se développent surtout à la surface sous forme de disques concaves, très minces, secs, blanchâtres, comme saupoudrés de farine. Au fond du tube, il ne se forme qu'un dépôt peu abondant. Le liquide reste clair. La culture donne parfois seulement des flocons qui restent à la partie inférieure du tube, comme pour l'*Actinomyces*.

Dans l'INFUSION DE PAILLE, le développement ne se fait qu'après quatre ou cinq jours et ressemble à ce que l'on voit dans le bouillon.

Le LAIT n'est pas coagulé, mais montre, après quelques jours, un revêtement blanc rosé à la surface.

Les cultures sont pathogènes, pour le cobaye et le lapin principalement. En injection sous-cutanée, elles déterminent des abcès. En injection intraveineuse, elles occasionnent dans les divers organes la formation de tubercules qui ressemblent à ceux dus au *Bacille tuberculeux*, montrent des cellules géantes et se caséifient très rapidement.

CLADOTHRIX VIOLACEA.

(*Streptothrix violacea de Rossi-Doria.*)

Tullio Rossi-Doria le donne comme assez fréquent dans l'eau et l'air. Les filaments ont les caractères habituels et restent colorés par la méthode de Gram.

Les cultures sur PLAQUES DE GÉLATINE n'ont pas de caractères particuliers ; la gelée se teint en rouge vineux autour de la colonie.

En *piqûre* dans la GÉLATINE, la culture ressemble à celles des précédents ; la liquéfaction est un peu plus rapide, même à la température ordinaire.

Sur GÉLOSE, la culture forme une pellicule à bords circulaires, produite par la confluence de colonies rondes, comme chez beaucoup de ces organismes.

La surface devient assez vite crayeuse et montre des taches d'un violet intense, d'autres d'un violet clair, d'autres grisâtres et, enfin, d'autres tout à fait blanches, surtout à la périphérie. Le milieu prend une nuance brune ou rousse, jamais violette.

Sur POMME DE TERRE, la culture pousse lentement ; elle forme une pellicule gris-ardoise, un peu violacée, un peu plissée. Le substratum se colore en brun un peu plus roux qu'avec le *Cladothrix chromogenes*.

Dans le *lait*, il se produit, dans la couche superficielle, où l'on trouve de nombreux filaments, une coloration rosée, avec, parfois, de petits points violets. Le milieu est lentement peptonisé; le liquide transparent, après un temps assez long, présente une teinte d'un rouge vineux ; la réaction est alcaline.

L'espèce ne végète pas en anaérobie.

Elle ne semble pas être nettement pathogène ; Rossi-Doria, sur un lot d'animaux inoculés dans le péritoine, dit avoir obtenu la mort d'un seul cobaye après vingt-deux jours.

CLADOTHRIX CARNEA.

(*Streptothrix carnea de Rossi-Doria.*)

Rossi-Doria l'a isolé de l'air où il le donne comme rare. Les colonies des cultures sur *plaques de gélatine* présentent la même disposition radiée que les précédentes ; celles de la superficie donnent des filaments sporifères d'un blanc légèrement rosé.

Sur *gélatine* en piqûre, il se développe une série de colonies rondes, très petites. La gelée ne se liquéfie pas tout à fait. Les couches superficielles prennent une coloration rosé clair.

Sur *gélose*, en strie, il se développe des colonies circulaires, qui restent le plus souvent isolées ; elles prennent une belle coloration chair ou rouge orangé.

Sur *pomme de terre*, la culture est verruqueuse et prend la même nuance que sur gélose.

CLADOTHRIX AURANTIACA.

(*Streptothrix aurantiaca de Rossi-Doria.*)

Il n'a été rencontré qu'une fois dans l'air.

Sur *plaques de gélatine*, les colonies sont aplaties, comme une goutte de cire, régulièrement circulaires. La nuance varie du jaunâtre à l'orangé vif. Elles se recouvrent à la fin d'une efflorescence blanche.

Sur *gélatine*, en piqûre, il se forme à la surface une petite pellicule ronde, d'un orangé vif, et, dans le canal, de petites colonies de nuance un peu plus éteinte. La gélatine n'est jamais liquéfiée.

Sur *gélose*, il se développe de nombreuses colonies circulaires, à centre se plissant à la longue, d'un orangé jaunâtre ; elles peuvent confluer en une pellicule verruqueuse, devenant d'une belle couleur orange. La surface ne se recouvre pas de l'efflorescence crayeuse que produisent les filaments sporifères d'autres espèces.

Sur *pomme de terre*, on observe d'abord de petites colonies plates qui confluent en une pellicule mince, d'abord jaunâtre, puis orangée ; il ne se forme jamais de filaments sporifères.

L'espèce ne croît pas à l'abri de l'air et ne montre aucune propriété pathogène.

Y a-t-il lieu d'en distinguer le *Streptothrix aurea* de Dubois Saint-Sévrin (1) ?

(1) DUBOIS SAINT-SÉVRIN, Sur une conjonctivite streptothricique curable par les applications de jus de citron (*Sem. méd.*, 1895, p. 202).

CLADOTHRIX RUBRA Ruiz Cazabo.

Ruiz Cazabo (1) l'a isolé de ses crachats.

Les cultures sur *gélatine* se développent vite et liquéfient rapidement; en cinq jours, la moitié de la gelée est déjà liquéfiée.. Au bout d'un mois, le liquide est recouvert d'une petite pellicule blanchâtre.

Sur *gélose*, il se forme vite une belle culture d'un rouge-cinabre qui couvre toute la surface libre.

Sur *pomme de terre*, le développement est aussi très rapide ; la colonie prend une coloration rouge et couvre toute la surface.

Dans le *bouillon*, il se forme de petites colonies rondes, rouges, qui se développent à la surface, puis se déposent au fond du vase.

Dans le *lait*, les colonies se développent comme dans le bouillon, mais sont plus fortement colorées.

Cette espèce paraît être facultativement anaérobie. Elle ne montre aucune propriété pathogène.

CLADOTHRIX ALBIDO-FLAVA Rossi-Doria.

(*Streptothrix albido-flava de Rossi-Doria.*)

Rossi-Doria l'a isolé de l'air où il paraît assez rare.

Sur PLAQUES DE GÉLATINE, les jeunes colonies sont formées de filaments très fins et très ramifiés, irradiant autour d'un centre opaque. Les colonies deviennent plus opaques et prennent une teinte jaune. La gélatine se liquéfie, mais tardivement.

Sur GÉLATINE, en piqûre, il se développe, le long du canal, de petites colonies rondes, transparentes, jaunâtres, et à la surface une petite colonie plate de même aspect. La liquéfaction de la gélatine ne commence qu'après une vingtaine de jours.

Sur GELOSE, la culture est abondante, verruqueuse, surtout à la périphérie. La partie centrale se colore en jaune ; à la partie périphérique, on trouve l'efflorescence crayeuse donnée par la formation de spores.

Sur POMME DE TERRE, la culture est assez lente; il se forme d'abord de petites colonies isolées semblables à celles qui se produisent sur gélose; elles confluent ensuite pour former une pellicule jaune.

Dans le LAIT, il se forme de grosses colonies discoïdes, flottant dans le liquide qui devient tout à fait transparent et prend une couleur jaune-paille ; sa réaction est légèrement alcaline.

Les cultures dégagent toutes une faible odeur de moisi. Elles ne viennent pas à l'abri de l'air.

L'espèce ne paraît avoir aucune propriété pathogène.

(1) Ruiz Casabo, Descripcion de un *Cladothrix chromogeno* (*Chronica medico-quirurgica de la Habana*, 1894, n° 13).

CLADOTHRIX INVULNERABILIS Acosta et Grande Rossi.

Acosta et Grande Rossi (1) l'ont isolé, à la Havane, de l'air de leur laboratoire et comme impureté développée sur des milieux de culture.

Sur GÉLOSE, en piqûre, il se développe, dans le canal, de petites colonies rondes, d'un blanc sale, et, à la surface, une petite pellicule plus blanche, très adhérente au milieu, un peu plissée; la partie inférieure, adhérente à la gelée, a une coloration jaune.

Sur GÉLATINE, il se développe à la surface une colonie blanche, veloutée, qui devient semblable à celles de la gélose, puis la gélatine commence à se liquéfier progressivement.

Sur POMME DE TERRE, on obtient assez vite une large bande formée de petites colonies blanches, crayeuses. Le milieu prend une teinte noirâtre. La culture développe l'odeur de terreau.

Dans le LAIT, il se forme à la surface une couche solide, jaune, adhérant au verre comme une sorte de bouchon. Au-dessous se trouve un liquide transparent et au fond un coagulum de caséine.

Dans le BOUILLON et même d'EAU STÉRILISÉE, l'espèce forme de petites colonies nuageuses.

Le développement a lieu à l'air et sans air. La résistance du microbe à la chaleur est très grande; il résiste facilement à des températures de 100°, même 120°. Il paraît n'avoir aucune propriété pathogène.

CLADOTHIRX MORDORÉ G. Thiry.

Atlas de microbiologie, pl. XXXVII.

G. Thiry (2) a isolé cette espèce dans mon laboratoire, dans un exsudat d'angine accompagnée de beaucoup d'œdème.

Les cultures sur GÉLOSE sont la plupart du temps tout à fait spéciales. Les colonies circulaires saillantes, bien isolées, sont d'abord grises ou un peu violacées, puis se recouvrent d'une efflorescence blanche due à la formation de spores et s'entourent d'une large auréole mordorée, brillante. Cet aspect mordoré, à reflets métalliques, est dû à la présence de cristaux lamellaires, d'un violet-améthyste clair, à centre rouge-rubis. Ces cristaux peuvent recouvrir toute la surface du tube qui apparaît comme métallisée. La gélose peut brunir ou rester incolore. Sur une même gélose, on peut obtenir de ces cultures types, d'autres jaune ocracé ou brunâtres, d'autres violettes, d'autres blanches.

La GÉLATINE est assez vite liquéfiée; il se forme à la surface une pellicule gris jaunâtre, qui se recouvre par places d'une efflorescence blanche. Le bord des cultures présente quelquefois des petits cristaux toujours moins beaux que sur gélose.

Le SÉRUM est rapidement liquéfié; l'aspect de la culture est le même que pour la précédente.

Sur POMME DE TERRE, la culture envahit rapidement toute la surface

(1) Acosta et Grande Rossi, Descripcion de un nuevo Cladothrix, *Cladothrix invulnerabilis* (*Chronica medico-quirurgica de la Habana*, 1893, n° 3).

(2) G. Thiry, Bacilles et Cladothrix polychromes (*Arch. de phys.*, avril 1897).

libre; c'est une efflorescence verruqueuse d'un gris rosé. La pomme de terre se colore entièrement en brun noir et présente, aux surfaces libres, des reflets mordorés dus aux cristaux signalés sur gélose. A la longue, elle est rongée, comme vermoulue.

Les filaments des cultures et les spores peuvent présenter la même nuance que les cristaux.

Toutes les cultures dégagent une odeur de moisi assez intense.

Si on traite une culture mordorée par du chloroforme, le réactif se colore en rouge-rubis. Si à cette solution on ajoute un peu d'eau et quelques gouttes de lessive de soude, l'eau se colore en bleu de ciel et le chloroforme se décolore complètement; par addition d'acide, le chloroforme redevient rouge. La solution chloroformique, évaporée lentement, abandonne de grands cristaux allongés.

L'espèce ne paraît avoir aucune action pathogène pour le cobaye.

Terni (1) a décrit, sous le nom d'*Actinomyces Gruberi*, une espèce qui peut aussi produire plusieurs pigments, du rose, du jaune, du brun, et est pathogène pour le cobaye : ses caractères sont encore insuffisamment connus.

(1) Terni, *Congrès de méd. de Rome*, 1894.

QUATRIÈME PARTIE

ÉTUDE SPÉCIALE DES PRINCIPAUX MILIEUX

CHAPITRE PREMIER

LES BACTÉRIES DE L'AIR

L'air renferme un très grand nombre de Bactéries. On en a une preuve facile en exposant pendant peu de temps à l'air des milieux de cultures dûment stérilisés ; la contamination s'en fait souvent dans de grandes proportions. Les exemples ne manquent pas, malheureusement, dans les recherches bactériologiques de chaque jour. Il est du reste facile de comprendre comment des êtres de taille si minime. à plus forte raison encore leurs spores, se rencontrant à profusion dans la nature, se répandent et se renouvellent constamment dans l'atmosphère.

Les premières recherches précises sur les Bactéries de l'air ont été faites par Pasteur : il en a exposé les résultats dans la campagne célèbre qu'il a faite contre la génération spontanée (1). Pour récolter les germes de l'air, il faisait passer lentement un volume déterminé d'air, à l'aide d'un aspirateur, sur une bourre assez épaisse de coton-poudre, placée dans un tube de verre en communication avec l'aspirateur. L'opération terminée, la bourre était dissoute dans un mélange d'alcool et d'éther. Le liquide, maintenu au repos, laissait déposer un sédiment plus ou moins abondant formé par tous les corps en suspension dans l'atmosphère. Parmi ceux-ci se trouvaient des poussières minérales, des débris végétaux ou animaux, des spores de Champignons et enfin des Bactéries. Mais l'étude de ces êtres, surtout des derniers, devenait difficile à cause du mauvais état dans lequel ils étaient obtenus : il était souvent même impossible de les distinguer dans le mélange complexe que l'on avait à examiner. Enfin, tout était mort sous l'action toxique du réactif ; il n'y avait plus à espérer la moindre culture.

L'emploi des *aéroscopes*, préconisés par Pouchet et perfectionnés par Miquel (2), ne donne pas des résultats bien supérieurs. Le principe consiste à projeter un courant d'air, obtenu à l'aide d'un aspirateur, sur une lamelle de verre enduite de glycérine. Le liquide visqueux retient les corps en suspension, qui restent agglutinés à la lamelle ; la préparation est alors examinée au microscope. Cette méthode peut avantageusement servir à fixer les objets d'un certain volume en suspension dans l'air, les particules minérales, les Algues, les spores de Champi-

(1) Pasteur, Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère, 1861.

(2) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère. Paris, 1883, p. 42.

gnons par exemple; elle est tout à fait à rejeter pour l'étude des Bactéries, qu'il n'est pas possible de distinguer.

Les procédés à rechercher sont ceux qui permettront d'isoler les Bactéries et de parvenir à les caractériser, et, peut-être, à les spécifier; ce sont les diverses méthodes de cultures employées pour étudier le développement de ces êtres, méthodes que l'on modifie, que l'on adapte à des besoins spéciaux (1).

Pasteur a eu le premier l'idée de faire développer, dans des liquides nutritifs, les Bactéries d'un volume déterminé d'air. Son procédé, qui pouvait aussi servir à une numération approximative des germes de l'air, était le suivant : des ballons à col effilé sont remplis de liquide nutritif, chauffés jusqu'à vive ébullition du contenu et fermés au chalumeau. Le vide est fait dans ces ballons. En brisant leur pointe, l'air y rentre avec violence en entraînant les poussières en suspension. Les vases refermés à la flamme sont mis en étuve à 30 degrés. La végétation est plus ou moins abondante, suivant la quantité de germes que contenait le volume d'air introduit, qui peut être facilement évalué, mais seulement d'une façon approximative. Il peut arriver que, parmi les ballons mis en expérience, il y en ait un certain nombre qui restent intacts, nombre qui varie nécessairement avec le degré de pureté de l'air; très minime dans les endroits peuplés, où l'atmosphère est riche en Bactéries, la proportion de ces derniers peut devenir assez grande en pleine campagne, sur les hauteurs, où l'air est bien plus pur.

Méthode de Miquel. — Cette méthode a été bien perfectionnée par Miquel, dans les intéressantes recherches qu'il poursuit à l'Observatoire de Montsouris. Il en a obtenu d'excellents résultats, en poussant assez loin le fractionnement des cultures, qui forme la base de sa manière d'opérer. Miquel (2) fait barboter un volume connu d'air, à l'aide d'un aspirateur quelconque, dans 30 centimètres cubes de bouillon, contenu dans un flacon à deux tubulures. L'air entre par un tube qui plonge jusqu'au fond du liquide et peut s'échapper du vase par la seconde tubulure, garnie d'un bouchon lâche d'ouate. Lorsque l'opération est terminée, ce dernier tampon est projeté dans le liquide avec un fil de platine flambé; le vase est doucement agité pour bien répartir les germes dans la masse. On en distribue alors le contenu dans un assez grand nombre de conserves de bouillon, 30 à 40 au moins. Le nombre des ballons à employer pour cette répartition doit être, à peu près, connu d'avance; il faut qu'une assez forte proportion ne montre aucun développement. De cette façon, il est permis de supposer que chacun des ballons troublés n'a reçu qu'un seul germe; leur nombre donne directement celui des germes contenus dans le volume d'air qui s'est lavé dans le bouillon primitif.

Cette méthode possède de très grands avantages. Bien conduite, elle donne certainement des évaluations les plus approchées qu'on puisse obtenir. Le milieu est des plus convenables pour le rajeunissement des

(1) Ficker, Zur Methodik der bakteriologischen Luftruntersuchung (*Zeitschr. für Hygiene*, XXII, 1896, p. 33).

(2) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère, et Neuvième mémoire sur les poussières organisées de l'atmosphère (*Annuaire de l'Observatoire de Montsouris pour 1887*, p. 278).

Bactéries; les cultures peuvent être conservées longtemps sans crainte d'altération ou de contamination. C'est certainement le procédé d'analyse bactériologique de l'air qui offre le plus de rigueur scientifique et qui donne les résultats les plus sûrs. Il est malheureusement d'un emploi peu pratique à cause de la grande mise en œuvre qu'il réclame. Chaque analyse demande un grand nombre de ballons, une cinquantaine au moins en moyenne; il faut disposer d'une grande installation et de tout un personnel pour pouvoir ainsi faire des recherches suivies. De plus, il est bien difficile d'affirmer avec certitude qu'un des ballons troublés ne renferme qu'une seule espèce, venant d'un seul germe introduit par le fractionnement du liquide de barbotage; rien n'indique, dans bien des cas, un mélange d'espèces dans un milieu liquide; il faut alors nécessairement recourir à des expériences de vérification sur les milieux solides, ce qui complique encore l'opération. Enfin, la détermination même d'une espèce pure, chose de haute importance, est d'habitude beaucoup plus difficile d'après les caractères des cultures dans le bouillon ; les différences des cultures sont moins sensibles et prêtent plus à la confusion.

Méthode de Koch. — Dès que les méthodes de culture sur les milieux solides furent instituées, Koch les appliqua à l'étude des Bactéries de l'air. Il exposait à l'air, pendant un temps déterminé, un cristallisoir dont le fond était recouvert d'une couche de quelques millimètres de gélatine nutritive. Un certain nombre de germes tombaient à la surface et donnaient, après quelques jours, autant de colonies. Cette manière d'opérer ne peut naturellement donner que des indications spéciales et jamais des résultats précis.

Méthode de Hesse. — Hesse (1) a imaginé un procédé plus applicable, basé sur les mêmes principes. Il fait circuler lentement un volume déterminé d'air dans un vase dont la paroi interne est revêtue d'une mince couche de gélatine solidifiée. Les germes qui sont en suspension, Bactéries ou Moisissures, s'accolent à la gelée et y donnent des colonies bien visibles. Son appareil consiste en un grand tube de verre, ouvert aux deux bouts, de 70 centimètres de long sur 3 centimètres et demi de diamètre; une extrémité est fermée par un capuchon plat de caoutchouc bien tendu, percé d'un trou rond de 1 centimètre environ de diamètre; l'autre est munie d'un bouchon de caoutchouc traversé par un tube de verre de la grosseur du petit doigt, muni de deux tampons d'ouate. On introduit dans le tube, avec une pipette, 50 centimètres cubes de gélatine nutritive fondue, puis, après avoir recouvert le capuchon de caoutchouc perforé d'un autre plein, on le met dans le stérilisateur à vapeur où on le laisse une heure ou deux. Lors du refroidissement, lorsque la gélatine devient visqueuse, on tourne doucement le tube sous un robinet d'eau froide, de façon à amener la gelée à prendre à son intérieur en une couche continue, sous forme de manchon. Le tube, disposé horizontalement sur un pied à niveau, est mis en communication, au moyen de tubes de caoutchouc, avec un système aspirateur. Le premier capuchon de caoutchouc est enlevé et l'air pénètre doucement par l'orifice du second dès que l'aspiration commence. La progression de l'air doit être très lente, pour permettre aux corpuscules

(1) Hesse, Ueber quantitative Bestimmung der in der Luft enthaltenen Mikroorganismen (*Mitth. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, II, p. 182).

en suspension de se déposer sur les parois ; il faut au plus faire passer un litre d'air chaque trois minutes. L'expérience terminée, le tube est refermé à ses deux extrémités, puis placé dans de bonnes conditions de température. Les colonies apparaissent vers le troisième jour; il est possible de les examiner à travers le verre à de faibles grossissements. Pour recueillir celles qui sont éloignées des extrémités, il faut fendre le tube à travers ou en long. L'appareil est encombrant et difficile à stériliser ; de plus, la surface de la gelée se dessèche vite et peut devenir impropre au développement de certaines espèces. Ces conditions en rendent l'usage peu fructueux.

Méthode de Frankland. — Frankland (1) a cherché à utiliser la pratique de dilution dans la gélatine de la méthode ordinaire des cultures sur plaques. Il fait passer un volume d'air connu à travers un tube de verre muni de deux bourres de soie de verre, sèche ou humectée d'eau sucrée. Après l'opération, chaque bourre est introduite dans un flacon contenant de la gélatine fondue. On agite doucement jusqu'à complète dissociation de la soie de verre dans la gélatine : puis on étale la gelée à l'intérieur des flacons, suivant le procédé d'Esmarch, ou on la coule sur des plaques de verre. La division complète des bourres est très difficile à obtenir et le mélange de la soie de verre à la gelée donne une masse opalescente, dans laquelle les jeunes colonies sont souvent peu visibles. Les cultures obtenues avec la première bourre renferment d'ordinaire un assez grand nombre de colonies ; celles fournies par la seconde n'en offrent que très peu.

Méthode de Petri. — Petri (2) préfère comme filtre du sable blanc fin stérilisé par exposition à une haute température. Il présente sur la soie de verre le grand avantage de se mélanger parfaitement à la gélatine et de se diviser facilement dans la masse. Dans un tube de verre de 9 centimètres de long sur $1^{cm},5$ à $1^{cm},8$ de large, il dispose, au moyen de culots en toile métallique, deux amas de sable fin de 3 centimètres de longueur chacun. Cette portion filtrante forme deux courts cylindres, qui se touchent à la partie médiane. Les extrémités du tube sont bouchées avec un tampon d'ouate et l'appareil est stérilisé à haute température. Pour l'usage, on le met en communication avec un aspirateur, après avoir enlevé les tampons d'ouate. L'aspiration doit être puissante, à cause de la résistance qu'offre le sable tassé au passage de l'air ; on l'obtient à l'aide d'une trompe ou d'une pompe à air. Lorsque le passage de l'air est terminé, le sable est mêlé à de la gélatine fondue, dont la quantité doit être proportionnée à la masse d'air qui a filtré ; le mélange est coulé sur des plaques ou dans de petits cristallisoirs plats, munis d'un couvercle. Le développement des colonies se fait comme dans les cultures sur plaques ordinaires. Il est facile, à un faible grossissement, de distinguer les grains de sable des jeunes colonies.

Ce dernier procédé offre de très grands avantages sur la méthode de Hesse ; il n'est pas toutefois sans présenter d'inconvénients. Les culots de toile de cuivre doivent être parfaitement calibrés pour ne pas laisser

(1) P. Frankland, The distribution of Micro-organisms in air (*Proceedings of the Royal Society*. London, 1886, 6, 526).

(2) Petri, Eine neue Method Bacterien und Pilzsporen in der Luft nachzuweisen und zu zählen (*Zeitschr. für Hygiene*, III, p. 1, 1887).

fuir le sable, puis l'aspiration puissante à laquelle on est obligé de recourir peut modifier les conditions dans lesquelles se trouve l'air soumis à l'expérience.

Méthode de Straus. — Straus (1) a adapté d'une façon heureuse la méthode de barbotage de Miquel à la culture sur les milieux solides. Il fait barboter un volume d'air déterminé à travers de la gélatine maintenue fondue à 30° dont il se sert pour faire les cultures.

L'appareil à barbotage se compose d'un petit flacon cylindrique, portant, près de son col, une tubulure oblique. Le goulot est fermé par un bouchon creux se terminant extérieurement par un tube court et intérieurement par un tube effilé plongeant jusqu'au fond du flacon. La tubulure latérale est garnie de deux tampons d'ouate séparés par un étranglement. L'appareil, bouché en haut par un tampon d'ouate, est passé à l'étuve sèche. On y verse 10 centimètres cubes de gélatine fondue et une goutte d'huile; puis le tout est placé, pendant un quart d'heure, à l'autoclave à 115 degrés. Après refroidissement, l'opération peut commencer. Pendant toute la durée, la gélatine est maintenue fondue vers 30° à l'aide d'un bain-marie, ou, plus simplement, en tenant le flacon dans la main. La tubulure latérale, munie de ses deux bourres, est mise en communication avec l'appareil aspirateur; on enlève la bourre qui ferme le tube extérieur du bouchon et l'expérience commence. Le passage de l'air à travers la gélatine fondue se fait plus ou moins vite, au gré de l'opérateur. Grâce à l'addition d'une goutte d'huile, il ne se forme que très peu de mousse, quelle que soit la vitesse du liquide. On peut ainsi faire barboter en très peu de temps une grande quantité d'air, sans avoir à craindre de projections, jusqu'à 50 litres par quart d'heure. L'opération terminée, on remplace la bourre du tube d'entrée de l'air, on agite bien l'appareil pour mêler à la gélatine les germes qui auraient pu rester adhérents aux parois, on enlève la première bourre de la tubulure et on fait tomber, à l'aide d'un fil de platine stérilisé, la seconde bourre dans la gélatine; la tubulure est refermée avec sa première bourre, la gelée est alors coulée sur plaques, ou étendue à l'intérieur du flacon d'après le procédé d'Esmarch.

La seconde bourre, que l'on fait tomber dans la gélatine, ne retient qu'une très faible quantité de germes, comme il est facile de s'en convaincre en l'ensemençant à part; le barbotage retient donc les germes de l'air dans une proportion très suffisante.

La durée de l'opération, qui est du reste d'ordinaire assez courte, n'influe en rien sur le nombre des germes, comme l'a prouvé l'expérience. On pourrait, cependant, dans les expériences de longue durée, user de bouillon stérilisé qui serait maintenu à 0°; la solidification s'obtiendrait par mélange avec de la gelée stérilisée.

Comparée aux procédés de Petri, de Frankland et surtout de Hesse, cette méthode a donné des résultats bien supérieurs, comme nombre de colonies bactériennes; ce qui est dû probablement à la dissociation des petits amas de Bactéries en suspension dans l'air, qui ne donnent chacun qu'une seule colonie dans les premiers procédés.

Méthode des bourres solubles. — Plusieurs expérimentateurs ont

(1) I. Straus, Sur un procédé perfectionné d'analyse bactériologique de l'air (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, II, 1888, n° 4, p. 170).

imaginé, pour filtrer l'air à étudier, de se servir de substances filtrantes solubles dans l'eau et les milieux des cultures et n'entravant en rien le développement des différents microbes dans ces milieux. La substance, finement pulvérisée, remplace le sable de la méthode de Petri. Miquel (1) donne la préférence au sulfate de soude préalablement déshydraté par la chaleur, préconisé déjà par Gautier (2).

On en dispose, dans un tube en verre de forme et de dimensions convenables, une certaine épaisseur que l'on retient au moyen d'un tampon d'ouate moyennement serré. L'extrémité du tube par où doit entrer l'air est munie d'une bourre d'ouate ou d'un couvercle rodé. Le tout est stérilisé à une haute température, 160°, dans le stérilisateur à air chaud. L'appareil est relié à un aspirateur et le couvercle ou la bourre qui le ferme sont enlevés. Après le passage de l'air, la substance soluble est projetée dans un ballon contenant de l'eau stérilisée. La numération et l'isolement des espèces microbiennes se font alors comme pour une eau ordinaire.

Méthode d'enregistrement de Miquel. — En combinant l'emploi de l'aéroscope avec une méthode de culture, Miquel (3) est parvenu à enregistrer, pour les différentes heures du jour, les colonies microbiennes provenant d'un volume d'air déterminé. Le courant d'air provenant de l'aéroscope est reçu sur une feuille de papier recouverte d'une gelée de lichen, portant une graduation horaire et mue au moyen d'un mouvement de pendule. Lorsque le passage de l'air est effectué, la gelée est regonflée sous une cloche pleine de vapeur d'eau, où elle séjourne un jour ou deux pour permettre le développement des colonies. Le tout est alors fortement coloré à l'indigo, puis décoloré au permanganate de potasse à 1 p. 1000, en arrêtant la décoloration dès que la gelée paraît rose par un lavage à grande eau. Les colonies restent colorées en bleu sur un fond jaunâtre, sauf pour quelques espèces chromogènes qui gardent leur coloration propre.

Au point de vue de la *détermination des espèces*, aucun procédé n'a encore nettement fait ses preuves. C'est de ce côté que devront tendre tous les efforts ; c'est en effet le seul résultat qui puisse être utilisé directement dans la pratique.

Les patientes recherches de Miquel (4) ont cependant conduit à la connaissance de données du plus haut intérêt. Elles ont montré que le nombre des Bactéries en suspension dans l'atmosphère variait en plus ou en moins dans des rapports directs avec certaines circonstances climatériques, avec l'altitude des lieux, avec la distance du sol au point où se fait la prise d'air, avec la présence de l'homme et surtout l'encombrement.

Il existe des *variations annuelles* qui sont très probablement sous l'influence immédiate des conditions de saison. Le nombre des Bac-

(1) Miquel, De l'analyse microscopique de l'air au moyen des filtres solubles (*Ann. de micr.*, 15 janvier 1889).

(2) Armand Gautier, *Revue scientifique*, 1886.

(3) Miquel, De l'enregistrement des poussières atmosphériques brutes et organisées (*Ann. de micr.*, 15 septembre 1889).

(4) Miquel, Les organismes vivants de l'atmosphère. Paris, 1882, et *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris*, de 1880 à 1887.

téries aériennes baisse rapidement à la fin de l'automne, reste peu élevé pendant tout l'hiver, puis s'accroît et se maintient haut pendant toute la saison chaude. Dans une même journée, on observe des *variations horaires*, se produisant régulièrement à des heures déterminées ; il y a un minimum vers deux heures du matin et un autre vers sept heures du soir, un maximum vers huit heures du matin et un autre vers sept heures du soir.

Les *variations journalières* paraissent plus nettement être sous la dépendance des phénomènes météorologiques. Les crues des Bactéries atmosphériques ont généralement lieu sous les hautes pressions. La température est loin de provoquer des recrudescences aussi soudaines. Le plus souvent les fortes crues ont lieu en été, mais les chaleurs prolongées font diminuer sensiblement le nombre des Bactéries de l'atmosphère. Enfin les maxima semblent correspondre presque toujours aux états hygrométriques faibles.

Une pluie de quelque durée purifie l'air, qui est beaucoup plus riche en Bactéries pendant les moments de sécheresse que dans les époques d'humidité. Retenus, en effet, par un substratum humide, les germes ne peuvent être que très difficilement enlevés par les mouvements de l'air qui sont le principal agent de leur dissémination.

Le vent est certainement la cause la plus importante de la dispersion des Bactéries et de l'accroissement en nombre de celles qui sont en suspension dans l'atmosphère. Son action n'est que peu appréciable lorsque le sol est humide, parce que les germes sont fortement retenus. Il n'en est plus de même lorsque le sol est sec et friable ; les courants d'air mélangent à l'atmosphère une grande quantité de poussières fines, très riches en Bactéries. On en trouve une confirmation à tout instant dans les recherches de laboratoire ; les cultures ouvertes dans un courant d'air ont de très grandes chances d'être contaminées ; celles qu'on découvre dans un local où l'air est très tranquille, sans poussières en suspension, s'altèrent dans une proportion très faible. Enfin, la direction du vent a une influence très marquée sur le nombre en question. Cette action, toutefois, n'est pas particulière au vent, mais dépend, uniquement sans doute, des causes d'infection que les couches d'air en mouvement rencontrent sur leur route. Les vents qui traversent des agglomérations d'habitants ou des endroits où se trouvent des accumulations de détritus organiques sont toujours très riches en Bactéries. Il ressort nettement de tout ceci que c'est surtout du sol que proviennent les souillures microbiennes de l'atmosphère.

Pasteur avait déjà prouvé que l'air des montagnes élevées était infiniment plus pauvre en germes que l'air des campagnes et, à plus forte raison, que l'air des villes. Miquel a reconnu qu'en plein Paris le nombre des Bactéries de l'air diminuait au fur et à mesure qu'on s'élevait. Des recherches faites en même temps au niveau du sol et au haut du Panthéon lui ont donné la moyenne suivante :

Sommet du Panthéon..............	28	Bactéries	par	mètre cube.
Parc de Montsouris.................	45	—	—	—
Mairie du IVe arrondissement.......	462	—	—	—

Les couches supérieures de l'atmosphère sont donc relativement très pures ; il y a une centaine de mètres de différence entre les deux

termes extrêmes de cette série. Ces résultats ont été confirmés par Christiani (1), dans des expériences faites en ballon; il a reconnu qu'au-dessus de 1 000 mètres, même directement sur une grande ville, l'air est extrêmement pur.

Dans les locaux habités, il est facile de le prévoir, le nombre des Bactéries croît en grandes proportions. De plus, elles se rencontrent d'autant plus nombreuses que plus d'individus sont réunis; on en trouve des maxima très élevés lorsqu'il y a encombrement, dans les salles publiques, dans les casernes, dans les hôpitaux. La respiration n'est pour rien dans ce phénomène, comme on l'a cru longtemps. Nous savons en effet, par les expériences de Straus, que l'air expiré est presque pur de Bactéries; il en contient des proportions excessivement minimes comparées à la quantité qu'il en renfermait avant l'inspiration. Les corpuscules en suspension s'accolent aux parois des voies respiratoires et s'y fixent. La respiration de l'homme ou des animaux tend donc, à ce point de vue, à purifier l'air; si elle le souille, c'est en y répandant d'autres produits nuisibles. C'est par la dissémination de poussières de toute sorte que l'air des locaux habités se charge de Bactéries; poussières inertes mises en suspens par les mouvements, poussières plus riches en germes provenant de la surface du corps ou de sécrétions ou d'excrétions desséchées. C'est là qu'il faut rechercher la principale source des germes de l'atmosphère des habitations, c'est de ce côté qu'il faut appliquer toute son attention lorsqu'on veut les écarter dans la mesure du possible.

On ne sait encore que très peu de choses positives sur la *détermination spécifique* des Bactéries de l'air. La plupart sont des saprophytes. Miquel, dans ses nombreuses expériences, avoue même n'avoir jamais isolé de l'atmosphère des cultures à action pathogène évidente. Cependant, outre qu'on a reconnu la présence dans l'air d'espèces manifestement pathogènes, on est conduit théoriquement à considérer l'atmosphère comme une voie, partielle ou exclusive, de transport de certaines maladies infectieuses. C'est de cette façon, très probablement, que se transmettent la rougeole, la scarlatine, la coqueluche et d'autres maladies, infectieuses à un haut degré. La tuberculose est certainement transmissible par inhalation. Il en est de même du charbon, de la septicémie du *Vibrion septique*, dont certaines manifestations cliniques ne sont explicables que de cette façon. La fièvre typhoïde se propage peut-être aussi par l'air. Bien qu'on n'ait pu jusqu'ici le démontrer directement, rien ne semble s'y opposer; un certain nombre d'observations bien établies plaident en faveur de cette opinion. Le *Bacille typhique* peut, du reste, à la suite de déglutitions, parvenir dans l'intestin avec des poussières sèches auxquelles il était mélangé. Pour le choléra, des particularités toutes spéciales rendent peu possible le transport par l'air; c'est principalement la très faible résistance du *Spirille du choléra* à la dessiccation qui ne lui permettrait pas de conserver quelque temps sa vitalité en suspension dans l'air. On est parvenu à isoler de l'air le *Pneumocoque* (Voy. p. 377); le *Streptocoque pyogène* a été rencontré

(1) Christiani, Analyse bactériologique de l'air des hauteurs puisé pendant un voyage en ballon (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 665).

dans l'air de salles d'hôpital (Voy. p. 360); des microbes pyogènes y ont été reconnus également (p. 347). Héricourt (1) a signalé la présence dans l'atmosphère de *Bacilles virgules* qui ont peut-être des relations vec des formes semblables signalées dans des cas d'entérite cholériforme. Les *Staphylocoques pyogènes* peuvent être considérés comme assez communs (2). La présence de Bactéries pathogènes dans l'air est donc aujourd'hui un fait acquis; elle paraît cependant en relation tout à fait directe avec les poussières qui s'y trouvent en suspension, et doit dès lors plutôt être considérée comme dépendant des poussières et du sol. Les progrès de la technique permettront sans doute d'y découvrir un plus grand nombre d'espèces. L'état dans lequel se trouve la substance infectieuse semble jouer un grand rôle ; c'est ce qui résulte des expériences de Cadéac et Malet (3) qui ont démontré que l'inhalation de poussières sèches renfermant des *Bacilles tuberculeux* ne donne que rarement la tuberculose aux cobayes, tandis que ces mêmes Bactéries pulvérisées avec des liquides produisent rapidement leur action pathologique.

Du reste, les Bactéries pathogènes trouvent dans l'air, plus qu'ailleurs, des causes de destruction très actives. La dessiccation peut tuer des espèces fragiles. Mais les principaux facteurs de destruction sont la lumière et l'oxygène, qui font périr bien des espèces nuisibles ou, au moins, atténuent et font disparaître en peu de temps leur virulence (Voy. p. 71, 80, 114). C'est peut-être pour cette raison que les cultures des Bactéries de l'air se sont montrées inactives. Les caractères morphologiques, surtout ceux des cultures, pourront mettre sur la voie.

CHAPITRE DEUXIÈME

LES BACTÉRIES DE L'EAU

En thèse générale, les eaux sont beaucoup plus riches en Bactéries que l'air. On le comprend facilement en remarquant que ce milieu liquide offre aux êtres inférieurs des conditions de vie bien meilleures; ils y évitent la dessiccation, qui leur est souvent si nuisible, et y trouvent souvent des proportions beaucoup plus grandes de substances nutritives.

L'étude bactériologique des eaux est devenue une opération de grande importance, depuis qu'on a signalé la présence, dans les eaux de boisson, de Bactéries pathogènes pour l'homme, et qu'on a reconnu que telle était la voie de transmission la plus habituelle de certaines affections épidémiques d'un caractère de haute gravité, la fièvre typhoïde, le choléra, les affections dysentériques, principalement.

De là, ressort la nécessité de s'assurer si une eau livrée à la consommation ne renferme pas d'organismes nuisibles, et la possibilité de

(1) Héricourt, Bacilles virgules dans l'atmosphère (*C. R. de l'Acad. des sc.*, C, n° 15).

(2) Concornotti, Ueber die Haüfigkeit der pathogenen Mikroorganismen in der Luft *Centralbl. für Bakt.*, XXVI, 1899, p. 492).

(3) Cadéac et Malet, Recherches expérimentales sur la transmission de la tuberculose par les voies respiratoires (*C. R. de l'Acad. des sc.*, C, 12 décembre 1887).

rechercher le point de départ et le mode d'extension de certaines épidémies. L'analyse chimique ne fournira que peu d'indications, souvent même pas du tout. Il n'y a en effet que des rapports tout à fait indirects entre la contenance en Bactéries d'une eau et la proportion de matières organiques qu'on y trouve. Certainement, lorsqu'une eau renferme beaucoup de matières azotées, elle offre un meilleur terrain de développement aux êtres inférieurs qui y vivent; ces derniers, toutes autres conditions étant égales, y pulluleront plus abondamment que dans une autre, moins nutritive pour eux. Mais si la condition essentielle, la contamination par des microbes vivants, fait défaut, l'eau, toute chargée qu'elle puisse être de déchets organiques, pourra n'être en aucune façon nuisible. D'un autre côté, beaucoup de Bactéries, des espèces à craindre entre autres, sont bien loin d'être exigeantes en matériaux azotés; certaines peuvent se reproduire et végéter assez longtemps dans l'eau distillée, utilisant ainsi des quantités d'aliments si faibles que nos réactifs chimiques ne nous les signalent pas. Des eaux très peu riches en matières organiques et en composés azotés, données comme pures à l'analyse chimique, peuvent se montrer très peuplées de Bactéries. Chantemesse et Widal (1) ont trouvé de nombreux *Bacilles typhiques*, lors de l'épidémie de Pierrefonds, dans une eau de puits ne renfermant que des proportions très faibles de matières azotées; j'ai isolé cette même espèce, très abondante, d'eaux données comme très pures à l'analyse chimique. D'ailleurs, ces eaux forment souvent un bon milieu nutritif pour des espèces pathogènes. D'après les recherches de Wolfhügel et Riedel (2), de Straus et Dubarry (3), les eaux de boisson riches en matières organiques, filtrées et stérilisées, permettent, à des températures favorables, un développement abondant du *Bacille du charbon*, du *Bacille typhique*, du *Spirille du choléra*. Le *Bacille du charbon* pullule même dans l'eau non stérilisée, soutenant ainsi la lutte avec les saprophytes, qui font au contraire disparaître rapidement le *Spirille du choléra*.

De la vie des microbes pathogènes dans l'eau.

Il serait intéressant d'avoir des renseignements précis sur la façon dont les Bactéries pathogènes se comportent dans les eaux. Les résultats obtenus par divers savants qui se sont occupés de la question sont malheureusement assez peu comparables et souvent tout à fait divergents, ce qui s'explique par la très grande variabilité des conditions d'expérience. La manière de vivre de ces Bactéries dans l'eau dépend, en effet, de nombreux facteurs. C'est tout d'abord la composition chimique de l'eau, principalement sa richesse en matières organiques; de plus, la nature de ses matières organiques dont certaines sont très propices à la vie des microbes, les autres inactives ou même nuisibles. C'est ensuite la température de l'eau, l'action des conditions de milieu, particulièrement de l'aération, de la lumière, du mouvement. C'est

(1) Chantemesse et Widal, *Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale*, t. XVII, 1887, p. 117.

(2) Wolfhugel et Riedel, Die Versuchung der Bacterien im Trinkwasser (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, I, 1886, p. 455).

(3) Straus et Dubarry, La vie des microbes pathogènes dans l'eau (*Arch. de méd. expér.*, I, 1889).

surtout la présence ou l'absence d'autres Bactéries qui peuvent, plus fortes, prendre le dessus dans cette lutte pour la vie, faire même disparaître complètement l'espèce que l'on a mise en expérience. Enfin, il est encore des conditions qui dépendent des microbes eux-mêmes : la vitalité, la résistance du microbe employé doivent aussi avoir une influence notable sur les résultats observés.

En opérant sur des eaux stérilisées d'avance, on se débarrasse de l'action nuisible des autres Bactéries. Pour ne pas introduire de matière organique dans l'eau en l'ensemençant, il est nécessaire de délayer une très minime portion de culture dans 5 ou 6 centimètres cubes d'eau distillée et d'ensemencer avec le moins possible du mélange. On remarque alors d'ordinaire une diminution pendant les deux ou trois premiers jours, puis une forte multiplication, suivie d'une diminution définitive due à l'épuisement du milieu. Seulement, on doit observer qu'on ne se trouve plus dans les conditions que l'on rencontre le plus souvent dans la nature.

Il résulte des expériences, en particulier de celles de Straus et Dubarry, que beaucoup de Bactéries pathogènes ont le pouvoir de vivre dans l'eau et de s'y multiplier. Il est toutefois des conditions, peu connues encore, où, même introduites en quantités considérables, elles semblent disparaître en peu de temps.

Cette disparition peut n'être qu'apparente. Les microbes en suspension dans l'eau, ne trouvant pas les conditions nécessaires à leur vie active, donnent des spores qui tombent au fond. Si alors on examine l'eau telle quelle, on n'en trouve plus de trace. Il faut provoquer leur mise en suspension dans l'eau pour les reconnaître. C'est ce que démontre très bien une expérience de Chantemesse et Widal sur le *Bacille typhique*. En ensemençant de ce microbe dans une grande quantité d'eau laissée en repos absolu, l'analyse n'en décèle plus au bout d'un certain temps. Si l'on décante avec précaution la presque totalité du liquide et qu'on remplisse le vase avec de la nouvelle eau préalablement stérilisée, cette dernière montrera du *Bacille typhique* à l'analyse; les spores qui s'étaient déposées avec les sédiments ont repris la vie active, grâce au nouvel apport de matière organique par l'eau. C'est ce qui peut expliquer comment une eau de puits, longtemps inoffensive, peut devenir nuisible à un moment donné après une forte agitation ou même après un nettoyage suivi d'une nouvelle mise en eau.

Le *Bacille typhique* paraît pouvoir vivre très longtemps dans l'eau *stérilisée*, surtout si elle renferme une notable proportion de matières organiques comme l'eau de rivière. Meade Bolton l'a encore trouvé vivant après un mois, Straus et Dubarry après quatre-vingt-un jours, Chantemesse après trois mois, Braun (1) après six mois passés. Dans l'eau ordinaire, *non stérilisée*, contenant par conséquent d'autres espèces microbiennes, il n'est pas possible de donner des conclusions générales, parce que les résultats doivent considérablement varier selon la nature des espèces qui vivent en concurrence. Il y a le plus souvent diminution, peut-être même disparition complète; mais il peut y avoir au contraire augmentation, lorsque les autres microbes périssent et augmentent

(1) Braun, Untersuchungen über die Degenerationserscheinungen pathogener Bakterien im distillierten Wasser (*Ziegler's Beitr. zur path. Anat.*, VII, 1889.)

ainsi la proportion de matière nutritive de l'eau. C'est ce que j'ai observé sur une eau fortement contaminée par le *Bacille typhique*. Dans l'échantillon conservé en flacon bouché, j'ai vu disparaître en grande partie les rares espèces saprophytes après un mois; le *Bacille typhique* restait presque seul au bout de deux mois, puis est devenu très rare, mais n'a disparu que vers le sixième mois. Hüppe, dans une série d'expériences, a obtenu des résultats contraires: le Bacille typhique a cédé le pas aux espèces saprophytes. La numération lui a donné les chiffres suivants:

	A l'origine.	1 jour.	5 jours.	10 jours.	20 jours.	30 jours.
Bacilles typhiques..	1.600	76	95	96	70	70
Bacilles de l'eau....	120	12.000	160.000	240.000	700.000	50.000

Ces proportions doivent toutefois considérablement varier selon les espèces de Bactéries que l'eau renferme.

Karlinski (1), dans l'eau de marais, très riche en saprophytes, dit n'avoir pas pu retrouver de *Bacille typhique* vingt-quatre heures après un ensemencement abondant. Mais ses constatations n'ont été faites qu'au moyen de seules cultures sur plaques de gélatine, moyen trop infidèle dans ces conditions.

Les recherches de Frankland (2) ont été faites dans de meilleures conditions, à l'aide de la méthode de Parietti (p. 712). Elles démontrent que, selon les conditions présentes, le *Bacille typhique* disparaît, dans l'eau de la Tamise non stérilisée, dans un intervalle de temps variant de deux à cinq semaines. De Giaxa (3) dit que cette espèce peut vivre longtemps et même pulluler dans l'eau de mer peu riche en microbes saprophytes.

Il semble qu'on peut conclure actuellement que la vie de ce microbe dans l'eau ordinaire est très limitée et ne dépasse pas quelques semaines.

On n'a aucune donnée sérieuse sur la façon dont se comporte ici la virulence du microbe.

Pour le *Spirille du choléra*, les résultats obtenus jusqu'ici sont encore moins concordants. Wolfhügel et Riedel l'ont vu disparaître après deux jours dans certaines expériences; dans d'autres, par contre, ils l'ont retrouvé vivant après sept mois, peut-être même un an; Straus et Dubarry en ont obtenu des cultures après plus d'un mois.

Les dernières recherches montrent que ce microbe peut avoir complètement disparu vingt-quatre heures après l'ensemencement, ou persister des semaines ou des mois, ceci suivant la composition de l'eau, sa teneur en microbes et la nature des espèces présentes.

Ledoux-Lebard (4) et Démétriadès (5) ont observé que le *Bacille de la diphtérie* pouvait résister de une à trois semaines dans l'eau soustraite à l'action de la lumière.

Le *Bacille du charbon* peut vivre plusieurs mois dans l'eau, à l'état de

(1) Karlinski, Ueber das Verhalten einiger pathogener Bakterien im Trinkwasser (*Arch. für Hygiene*, IX, 1889, p. 113 et 432).

(2) Frankland, Ueber das Verhalten des Typhusbacillus und des Bacillus colicommunis im Trinkwasser (*Zeitschr. für Hygiene*, XIX, 1895).

(3) De Giaxa, Ueber das Verhalten einiger pathogener Mikroorganismen im Meerwasser (*Zeitschr. für Hygiene*, VI, 1889).

(4) Ledoux-Lebard, *Arch. de méd. expér.*, V, 1893.

(5) Démétriadès, Action de l'eau sur le Bacille diphtérique (*Arch. de méd. expér.*, VII, 1895).

simple cellule végétative ; à l'état de spores, il résiste beaucoup plus, et il se produit facilement des spores dans l'eau. Il en est de même du *Bacille du tétanos* et du *Vibrion septique*.

Chantemesse et Widal ont trouvé le *Bacille de la tuberculose* vivant, dans l'eau de Seine stérilisée, après soixante-dix jours. Straus et Dubarry sont arrivés au même résultat après un séjour de cent quinze jours et ont cru remarquer que la virulence de ce microbe s'atténue après un long séjour dans l'eau.

Ces deux derniers auteurs ont encore fait d'intéressantes observations sur d'autres espèces. Ils ont trouvé vivant le *Bacille de la morve* au bout de cinquante-sept jours, le *Streptocoque pyogène* au bout de quinze jours, le *Staphylocoque pyogène doré* au bout de vingt et un jours, le *Bacille pyocyanique* au bout de soixante-treize jours, le *Pneumocoque de Friedlaender* au bout de huit jours, le *Micrococcus tetragenus* au bout de dix-neuf jours, le *Micrococcus du choléra des poules* au bout de huit jours, le *Bacille du rouget du porc* après trente-quatre jours, le *Bacille de la septicémie de la souris* après vingt jours.

Il faut se borner à tirer de ces recherches, avec Duclaux, les sages conclusions suivantes : que si, d'une manière générale, l'eau est un milieu peu favorable aux microbes pathogènes, elle ne l'est pas toujours, et qu'il est toujours prudent de la traiter comme si elle ne l'était jamais.

L'eau dans la nature.

Théoriquement, une eau qui émerge d'un terrain qui filtre bien doit être pure. C'est ce qui arrive pour beaucoup d'eaux de sources ; les expériences de Pasteur et Joubert (1) l'ont démontré. Mais souvent le liquide est souillé à sa sortie, et cela par des causes diverses. D'abord le terrain, à travers lequel l'eau filtre, peut être formé d'éléments grossiers, laissant entre eux des intervalles plus ou moins considérables ; le liquide n'est dépouillé qu'en partie des corpuscules en suspension. Le fait est plus commun qu'on ne le pense ; des expériences ont prouvé que du gros sable, même en couche épaisse, se laisse traverser par les Bactéries ; les matériaux d'une finesse extrême seuls filtrent bien. Les couches les plus denses sont souvent parcourues par des fissures, qui sont parfois très grandes, de véritables failles, qui empêchent l'action épuratrice de s'exercer. Une nappe d'eau pure peut être souillée par le mélange d'eaux impures voisines, suintant par des interstices du sol. Enfin, les meilleures couches filtrantes elles-mêmes n'agissent plus suffisamment au bout d'un certain temps d'usage. Des Bactéries, des Moisissures même, beaucoup plus grandes, s'accolent à la surface d'un filtre en terre de pipe ou en porcelaine dégourdie, qui les arrête si bien dans les conditions ordinaires, lorsqu'elles circulent à son contact, parviennent, par une lente végétation, en s'adaptant à l'espace restreint qui leur est offert, jusque sur la face opposée, où elles reprennent leur aspect normal. Il n'est guère de sol si dense qui résiste mieux que ces corps. On voit ici l'importance considérable qu'ont les conditions du sol sur la valeur des eaux qu'il contient ; ce qui fait que l'étude de ces con-

(1) PASTEUR et JOUBERT, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1878.

ditions est indispensable pour toutes les questions de choix et de captage d'eaux destinées à l'alimentation.

Supposons cependant l'eau pure au sortir du sol, comme l'est celle des bonnes sources. Il y a souvent au captage des causes nombreuses de contamination. Il en est de même tout le long du parcours, où s'observent souvent des fissures de tuyaux permettant l'introduction de matières étrangères, ou dans les tuyaux mêmes, aux endroits de stagnation, des amas de matières organiques, véritables foyers de pullulation pour les microorganismes. Ces causes n'ont souvent qu'une importance secondaire, mais elle devient grande si par les fissures peuvent se mêler des eaux de déchets, eaux ayant servi au lavage d'objets souillés, liquides provenant des fosses d'aisances surtout, choses bien faciles à prévoir du moment où les conduites traversent des lieux habités. Enfin, la contamination peut se faire plus près du but encore, au réservoir d'approvisionnement ou même au robinet de débit.

En tenant compte de ces circonstances, au point de vue des chances de contamination et conséquemment de la teneur en Bactéries, on peut classer de la façon suivante les eaux livrées à la consommation : en premier lieu les eaux de rivière ; en second lieu les eaux de puits ou de citerne ; en troisième lieu les eaux de source. Ces dernières seules sont d'habitude d'une pureté relative ; si elles ne sont pas souillées à leur point d'émergence par un sol riche en germes, il est facile de prendre des dispositions qui permettent de les obtenir pures. Quant aux autres, elles doivent toujours être suspectées et souvent écartées de l'alimentation. Non pas que la plupart du temps elles renferment des espèces nuisibles, la présence en est heureusement assez rare. D'un autre côté, l'organisme ne se laisse pas envahir par les parasites avec la facilité d'un milieu inerte ; il résiste et garde souvent le dessus. De plus, les Bactéries, à l'état de cellules végétatives, sont facilement tuées par le suc gastrique ; les spores ne sont pas attaquées, mais il faut déjà qu'elles aient pu se former et presque toujours la température peu élevée de l'eau s'y oppose.

La principale raison de la prohibition qui devrait s'étendre aux eaux de la première et de la seconde catégorie est l'extrême facilité de leur contamination et la grande extension que peuvent prendre alors les affections épidémiques développées, vu le nombre des personnes exposées. Ces faits ont été amplement démontrés par l'étude de certaines épidémies de fièvre typhoïde, décimant les personnes faisant usage d'une eau suspectée à juste titre et épargnant toute une série voisine consommant une eau pure. On en trouvera des preuves convaincantes dans le remarquable exposé des *Modes de propagation de la fièvre typhoïde*, fait par le professeur Brouardel (1) au Congrès international d'hygiène de Vienne, en 1887. Ces mêmes raisons devraient faire rejeter le système du *tout à l'égout et l'égout à la rivière*, qui empoisonne les cours d'eau au détriment des riverains. Les matières organiques disparaissent, consommées surtout par des Bactéries de l'eau, mais les germes infectieux peuvent subsister et porter au loin leur action.

Indépendamment de cet apport, si important au point de vue de

(1) Brouardel, *Ann. d'hyg. et de méd. légale*, t. XVIII, 1887, p. 385. — *Traité de médecine*, art. Fièvre typhoïde, par Brouardel et Thoinot.

l'hygiène, de l'eau d'égout aux rivières, la teneur en microbes de l'eau de ces cours d'eau est surtout influencée par les crues ; l'observation démontre nettement qu'à toute crue hydrométrique correspond une crue microbienne.

En dehors des crues, on doit admettre que les rivières ont ce qu'on peut appeler une *teneur microbienne normale*, sorte d'état moyen dépendant des conditions relativement fixes de leur bassin et de leur cours (1).

Cette teneur normale n'est pas influencée par la température ; elle varie surtout à la traversée des grands centres, à cause de l'apport de quantité de déchets, de l'eau d'égout en particulier. L'augmentation peut être énorme ; mais elle n'est pas persistante. Au contraire, elle diminue toujours progressivement, à mesure qu'on s'éloigne du lieu de la contamination, jusqu'à revenir, après un parcours suffisant, au chiffre habituel de la teneur normale. La longueur de parcours nécessaire varie suivant les conditions ; on peut admettre qu'il faut, suivant le cas, de 15 à 25 kilomètres.

C'est là ce qu'on nomme l'*épuration spontanée des rivières*, fait constaté bien des fois (2). Ses causes sont multiples ; c'est surtout la sédimentation des germes, l'oxydation par contacts répétés avec l'air, la destruction par la lumière, par les autres organismes vivants, etc.

Analyse bactériologique de l'eau.

Ces raisons seront certainement déclarées suffisantes pour faire estimer l'étude bactériologique des eaux de consommation à la hauteur au moins de l'analyse chimique. Ces deux études doivent se compléter l'une l'autre, mais ne peuvent en aucun cas se suppléer. Elles ont toutes deux une grande importance au point de vue hygiénique ; la première plus peut-être que la seconde, à cause des conséquences beaucoup plus graves qui peuvent résulter de l'introduction dans l'organisme d'un contage vivant. Toutes les précautions sont surtout utiles à prendre dans les fortes agglomérations d'individus, plus peut-être encore dans les campements, les populations ouvrières, où souvent les conditions de vie mauvaises, le surmenage, la misère physique, créent tant de prédispositions aux épidémies.

Le point important est non pas d'évaluer, avec une certaine approximation naturellement, il n'est pas possible d'arriver juste, le nombre des Bactéries qui se trouvent dans une eau donnée, ce qui ne fournit que des données trop générales et aucune indication directement pratique, mais de *déterminer* les espèces qui sont contenues, ou tout au moins de pouvoir reconnaître s'il s'en trouve, parmi elles, de nuisibles ou suspectes, ou d'autres pouvant fournir quelques indications, souvent précieuses, sur les différentes influences que l'eau a pu subir. Ce doit

(1) Macé et Imbeaux, Recherches sur la teneur microbienne des eaux de la Moselle et de la Meurthe (*Ann. d'hyg.*, novembre 1899).

(2) Sammlung von Gutachten über Flussverunreinigung (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, XIV, 1898, p. 407). — Kadrhel, Bakteriologische und kritische Studien über die Verunreinigung und Selbstreinigung der Flusse (*Arch. für Hygiene*, XXX, 1897, p. 32). — Kruse, Ueber Verunreinigung und Selbstreinigung der Flusse (*Centralbl. für allgem. Gesundheitsamte*, 1899, p. 26). — Macé et Imbeaux, *loc. cit.*

être là l'objectif où tendront tous les efforts, le but qui guidera les recherches. L'observateur n'a encore jusqu'ici qu'assez peu de renseignements pour se diriger, mais ils suffisent déjà pour résoudre de graves questions, à la condition d'apporter toute la précision nécessaire à ces études (1).

En se pénétrant bien des résultats à obtenir, il est facile de se prononcer sur la valeur des différents procédés qui ont été proposés et mis en œuvre pour l'étude bactériologique de l'eau. Ceux-là seuls sont utilisables qui permettent d'isoler les différentes espèces de Bactéries et d'en obtenir des cultures pures dont les caractères serviront de base à la diagnose. Les autres sont à laisser complètement de côté, comme ne donnant que des résultats incertains et tout à fait insuffisants.

Il n'y a pas à songer à l'*examen direct* ; ces êtres sont de trop petite taille, ne mesurant souvent que des fractions de millième de millimètre, leur réfringence se distingue trop peu de celle du milieu ambiant, pour que leur recherche soit praticable sous le microscope, armé des forts grossissements nécessaires. L'addition d'acide osmique ne facilite pas l'opération, loin de là ; bien des particules organiques, qui ne se distinguent que bien difficilement des Bactéries rondes, surtout des *Micrococcus,* se colorent aussi en noir par ce procédé et apportent une importante cause d'erreur dans la numération. Il est impossible à un observateur, même des plus exercés, de se faire une idée, avec une très large approximation, du nombre des Bactéries contenues dans une goutte d'eau, par l'examen immédiat. De plus, par ce moyen, il n'y a guère à songer à différencier les espèces et à arriver ainsi au seul résultat réellement pratique de l'analyse bactériologique des eaux ; les caractères propres aux éléments de bien des espèces sont par trop voisins pour en permettre la plupart du temps la distinction.

Il en est de même de l'*examen après coloration*, qu'il se pratique par la méthode ordinaire ou par celle qu'a proposée Certes. Dans la première, une goutte d'eau est évaporée à une douce chaleur sur une lamelle couvre-objet bien propre et la mince couche résiduale colorée en très peu de temps à l'aide d'une solution alcoolique concentrée de fuchsine ou de violet de méthyle, puis lavée rapidement à l'eau. Outre que l'examen tant soit peu consciencieux de telles préparations est très pénible, les résultats que l'on en retire ne sont pas préférables à ceux du premier procédé. Les cristaux ou le sédiment amorphe qui résulte de l'évaporation gênent d'ailleurs considérablement l'observation.

La modification proposée par Certes (2) n'est applicable que dans des cas tout spéciaux et ne peut pas conduire à la solution cherchée. Cet habile micrographe conseille de laisser tomber dans l'eau à examiner des lamelles couvre-objet, soigneusement lavées à l'acide et à l'alcool et stérilisées par le flambage. D'après lui, les Bactéries, en suspension dans le liquide sous la forme de petites colonies visqueuses, adhèrent à la lamelle de verre qui vient les toucher. Les lamelles recueillies sont traitées par les réactifs colorants et montées en préparations microsco-

(1) Voy. Gabriel Roux, Analyse bactériologique de l'eau. Paris, 1892, J.-B. Baillière. — P. et G. Frankland, Mikro-organism in Water. Londres, Longmans, Green and C°, 1894.

(2) Certes, Analyse micrographique des eaux. Paris, 1883.

piques. Cette méthode, excellente pour certaines grandes espèces et qui peut donner des détails intéressants sur l'aspect des petites zooglées que les Bactéries forment dans l'eau, ne fournit aucune base sûre soit pour la numération, soit, à plus forte raison, pour la diagnose.

La rapidité plus ou moins grande avec laquelle de faibles proportions d'eaux à examiner liquéfient une quantité donnée de gélatine n'a pas de signification utilisable. Beaucoup d'espèces ne liquéfient jamais ce milieu, et parmi elles de très nuisibles, le *Bacille typhique*, le *Colibacille*, le *Pneumocoque*, le *Streptocoque pyogène*, entre autres, que l'on a rencontrés ou que l'on peut être exposé à rencontrer dans l'eau. D'un autre côté, certaines espèces, tout à fait inoffensives, jouissent d'un pouvoir liquéfiant vraiment remarquable. Il en est de même de l'apparition plus ou moins hâtive, dans les bouillons nutritifs, du trouble indiquant le développement de Bactéries dans leur masse.

L'emploi de méthodes plus complètes peut seul conduire à des résultats satisfaisants. Il est nécessaire de s'adresser aux *méthodes de cultures* qui permettent d'abord d'arriver à une numération des germes existant dans l'eau pouvant croître sur les milieux employés, d'isoler ceux qu'on peut avoir intérêt à étudier et constater alors les réactions qu'ils peuvent déterminer, particulièrement leur action sur l'organisme animal. On peut avoir recours aux méthodes habituelles, d'une part, qui conviennent à un nombre assez considérable d'espèces. D'autre part, pour obtenir des espèces qui demandent des conditions particulières de milieu ou pour isoler plus facilement certaines espèces, on peut employer des méthodes spéciales, basées sur l'emploi de milieux de composition particulière ou de conditions de vie différentes. Dans cet ordre d'idées, ce n'est qu'avec certains milieux qu'on arrive à isoler les Bactéries nitrifiantes ; la recherche des anaérobies exige l'emploi des procédés convenables ; l'inoculation aux animaux peut fournir des renseignements intéressants.

Procédé de Miquel. — Miquel (1) a appliqué à l'analyse de l'eau le procédé de fractionnement des cultures, qui lui avait servi aux examens bactériologiques de l'air, la culture dans du bouillon de parties de substances tellement diluées qu'on puisse être sûr de n'avoir dans chaque ballon qu'une seule espèce, provenant d'un germe unique. Un faible volume déterminé d'eau, 1 centimètre cube ou une goutte même si c'est nécessaire, est mélangé par agitation avec 100 centimètres cubes d'eau ou de bouillon stérilisés. Cette première dilution, qui pourra être faite plus faible au besoin, est répartie, tout ou portion seulement, dans une série nombreuse de ballons de petit volume, remplis à moitié de bouillon nutritif, que l'on a privé sûrement de tout germe par une exposition d'une à deux heures dans un autoclave à 115-120°. Pour que les chances de réussite soient grandes, qu'on puisse avoir une grande probabilité d'être arrivé à une dilution de l'eau à observer suffisante pour qu'une seule Bactérie ou une seule spore se trouve dans le volume mis en ensemencement, il est nécessaire qu'une certaine partie, un bon tiers, des ballons employés reste stérile. Il est souvent commode de faire rapidement une première estimation approchée, pour arriver plus sûrement

(1) Miquel, *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris*, 1880 et 1881, et Analyse bactériologique des eaux. Paris, 1891, Gauthier-Villars.

à un bon résultat. C'est du reste tout simplement une affaire de nombre de ballons; il faut pour la plupart du temps en prendre une assez grande quantité, de 50 à 100 et même plus. C'est un des inconvénients du procédé, qui exige une grande installation et n'est alors plus à la portée de la pratique courante. De plus, les milieux liquides, bien que convenant mieux au développement de la plupart des espèces de Bactéries, se prêtent difficilement à leur isolation, lorsque plusieurs espèces croissent ensemble. Il peut fort bien arriver que deux, trois, quatre espèces et plus vivent côte à côte dans un même ballon de culture, sans qu'un œil, même exercé, s'en aperçoive. Enfin, dans les conditions les plus favorables, où l'on n'a affaire qu'à des espèces bien et dûment isolées, il est en général beaucoup plus difficile de reconnaître une espèce aux caractères de ses cultures dans les milieux liquides qu'à l'aide de ceux qu'elle offre lorsqu'elle croît sur les milieux solides habituels.

Méthode des cultures sur plaques. — La méthode à recommander est certainement la vraie méthode des cultures sur plaques de gélatine de Koch. Il faut cependant reconnaître que la manière de faire préconisée par Miquel conduit à des résultats plus exacts et permet d'obtenir des espèces que ne donnent pas les cultures sur gélatine. Certaines Bactéries semblent en effet ne pas pouvoir croître sur ces gelées, tandis qu'elles végètent très bien dans les bouillons; en particulier plusieurs ferments de l'urée décrits par Miquel (p. 986) se comportent de cette façon. En outre, il en est qui demandent pour commencer à se multiplier un temps assez long, de quinze jours à un mois parfois. Or, il est rare que les cultures sur plaques puissent se maintenir aussi longtemps dans un état convenable pour l'observation; elles se détruisent presque toujours beaucoup plus tôt, à cause de la présence d'espèces qui liquéfient la gélatine. Comme procédé véritablement scientifique, devant être employé pour les recherches très minutieuses, dans des services largement installés, celui de Miquel est sans doute préférable; il offre beaucoup plus de ressources que celui de Koch, qui a pour lui sa commodité excessive, sa grande facilité d'exécution et qui, en somme, donne des résultats parfaitement satisfaisants. Complété par certaines recherches complémentaires et par l'étude générale de l'action des microbes de l'eau sur l'organisme animal, c'est la véritable méthode d'analyse bactériologique de l'eau qui peut entrer dans la pratique courante.

La marche à suivre pour la préparation des cultures sur plaques de gélatine a été exposée précédemment (p. 222). La gelée qui doit servir renferme de 8 à 12, 15 et même 20 p. 100 de gélatine suivant la température extérieure; en été, 10 p. 100 est un minimum. Elle doit être légèrement, mais franchement alcaline, l'expérience démontrant que, dans ces conditions, on obtient le maximum de colonies. Des tubes, préparés comme il a été indiqué, renfermant de 15 à 20 centimètres cubes de gélatine, sont mis à fondre à une température un peu inférieure à 40°. On laisse la température tomber un peu, vers 35°, et on fait l'ensemencement. La prise d'eau se fait à l'aide d'une petite pipette, confectionnée avec un tube de verre étiré, que l'on a soigneusement stérilisée à l'avance. On en prépare une petite provision qui est stérilisée en bloc dans une feuille d'ouate, où l'on puise au fur et à mesure du besoin. Pour des recherches très rigoureuses, on doit se servir de pipettes essayées d'avance, débitant 20 à 22 gouttes au gramme. La provision d'eau est fortement

agitée, de manière à répartir les Bactéries dans la masse, le plus uniformément possible. On plonge la pipette par l'orifice du flacon, l'extrémité effilée tournée en bas, et on laisse monter le liquide jusqu'à une certaine hauteur. On débouche un tube de gélatine et, à l'aide de la pipette, on y laisse tomber un certain nombre de gouttes d'eau que l'on mélange intimement à la gelée, en secouant légèrement le tube et le roulant doucement entre les doigts de manière à ne pas provoquer la formation de bulles d'air. On procède de même avec un autre tube si l'on veut faire à la fois plusieurs cultures du même échantillon. A l'aide de cette première dilution, on en obtient une seconde en mélangeant une ou plusieurs gouttes du contenu de ce premier tube à la gélatine d'un second; puis de la seconde une troisième, et, en continuant ainsi, une quatrième parfois, lorsque les eaux sont très riches en Bactéries. Dans des cas spéciaux, quand on expérimente sur des eaux d'égout ou des eaux vannes, il peut être nécessaire de pousser plus loin la dilution. Il est alors plus commode de partir d'une dilution déjà étendue, obtenue par exemple en mélangeant 1 centimètre cube du liquide d'échantillon à 100 centimètres cubes ou plus d'eau ou de bouillon soigneusement stérilisés et d'opérer avec cette dilution comme avec l'eau des cas précédents. C'est une simple affaire d'appréciation, qui sera très vite résolue après quelques tâtonnements ou par l'habitude que donne la pratique. Avec les eaux peu chargées de microbes, on peut se passer de faire des dilutions, ensemencer plusieurs tubes avec des quantités décroissantes de l'eau à étudier, un premier avec 20 gouttes par exemple, un autre avec 10, un autre avec 5, un autre avec une seule.

En tout cas, il est toujours préférable de faire un certain nombre de plaques, soit à des dilutions différentes, soit à la même dilution. Une analyse bien conduite demande de cinq à dix plaques. Pour la numération des colonies, on prend une moyenne obtenue avec toutes les cultures; on arrive de la sorte à des résultats plus sûrs.

Miquel conseille de faire un essai préliminaire, pour évaluer très rapidement, d'une manière approximative, la richesse de l'eau en Bactéries. L'eau à examiner est diluée à 1 p. 100, 1 p. 1000, 1 p. 10 000 et 1 p. 100 000 dans de l'eau ou du bouillon stérilisés. Une goutte de chacune de ces diverses dilutions est introduite dans une série de ballons de bouillon portés à l'étuve. Au bout de vingt-quatre heures, le nombre de ballons contaminés donne une indication sur le degré de dilution à atteindre. Le procédé n'est pas à employer lorsqu'il faut mettre tout de suite l'eau en culture.

La gélatine est coulée sur les plaques stérilisées ou mieux dans des boîtes de Petri stérilisées, avec les précautions indiquées. Les cultures sont placées en nombre plus ou moins grand sur de petites étagères métalliques et laissées dans une chambre humide à une température de 15 à 18°. Les chambres humides doivent être stérilisées avec attention à haute température quand on le peut, ou à l'aide de liquides antiseptiques, pour éviter surtout le développement des Moisissures, si funestes aux cultures; l'humidité y est entretenue à l'aide d'éponges ou de tampons d'ouate imbibés d'eau bouillie. De plus amples détails ont, du reste, été exposés précédemment (p. 226 et suiv.); l'emploi des boîtes de Petri diminue beaucoup ces chances de contamination.

D'ordinaire, les colonies apparaissent de vingt-quatre à trente-six

heures sous forme de petits points blancs. A un faible grossissement, ce sont de petites taches discoïdes ou sphériques, blanches ou jaunâtres. Elles ne prennent un aspect caractéristique que quelques jours après ; cependant quelques espèces, liquéfiant la gélatine, se développent très vite et atteignent rapidement leur maximum ; aussi doit-on suivre attentivement les cultures à partir de la vingtième heure. C'est d'habitude du deuxième au cinquième jour que les plaques doivent être étudiées avec soin. A ce moment, les caractères de beaucoup de colonies sont suffisants pour permettre de les classer avec probabilité, sinon avec certitude absolue.

Il est possible alors d'obtenir des cultures pures des diverses espèces en puisant dans ces colonies et les ensemençant, suivant les procédés indiqués dans la première partie de ce livre.

Pour que les colonies se développent bien, il est nécessaire qu'elles ne soient pas trop nombreuses sur les plaques. Lorsqu'elles dépassent 100 à 150 sur une plaque, elles se gênent et ne grandissent souvent pas; il devient difficile de saisir leurs vrais caractères. C'est là une affaire de dilution suffisante de l'eau à ensemencer.

Avec les eaux riches en microbes, il est rare que les plaques faites directement avec l'eau puissent servir longtemps. Elles contiennent d'ordinaire de trop nombreuses colonies, qui se touchent, se confondent en partie et se gênent dans leur développement. De plus, la couche de gelée est d'ordinaire liquéfiée avant le développement suffisant de la plupart des colonies. Les dilutions suivantes seront plus utilisables et serviront surtout à la numération approximative des colonies microbiennes. On a cependant toujours intérêt, pour cette numération, à opérer sur les cultures faites avec la plus grande proportion d'eau ; l'expérience démontre vite que l'on obtient ainsi les meilleurs résultats.

Pour arriver à une *numération* aussi exacte que possible des germes pouvant se cultiver sur gélatine que contient l'eau mise en étude, il est nécessaire d'attendre un temps suffisant pour permettre à la plupart d'entre eux de donner des colonies bien visibles (Voy. p. 233). L'expérience démontrera facilement qu'une numération faite vers le quatrième jour, par exemple, ne donnera qu'un chiffre notablement inférieur, le tiers ou le quart bien souvent, à celui fourni par une même opération faite sur une culture âgée de dix à douze jours. A partir du moment où les colonies deviennent bien visibles dans ces cultures, vers le troisième jour d'ordinaire, si l'on compte les colonies chaque jour on voit le chiffre obtenu augmenter progressivement jusque vers le douzième jour environ. A ce moment, il reste à peu près stable, presque tous les germes pouvant se cultiver dans ces conditions ayant formé leurs colonies. Il vaut toujours mieux faire la numération définitive le plus tard possible : mais en opérant après dix ou douze jours, si les cultures ont été maintenues à une température suffisante, 15° à 18°, on peut être assuré d'avoir une approximation suffisante.

En maintenant les cultures à une température plus élevée, on arrive plus vite à faire une numération dans de bonnes conditions. Avec des gelées à 20 ou 25 p. 100 de gélatine, il est possible de mettre les cultures dans une étuve réglée de 23 à 24° ; le développement est beaucoup plus rapide ; après quatre ou cinq jours, on peut faire une numération définitive.

Pour faire cette numération, on se sert avantageusement d'une simple ardoise, ou d'un carton noir portant un quadrillage blanc au centimètre carré, facile à faire. Pour les cultures assez peu riches en colonies, on compte toutes les colonies d'une culture; pour celles plus riches, on fait la numération dans la moitié ou le quart seulement; enfin, pour celles qui montrent de très nombreuses colonies, on peut souvent établir une moyenne par centimètre carré, en comptant sur une dizaine de centimètres carrés, en des endroits divers de la culture, et établissant une moyenne. Avec les boîtes de Petri, le nombre total est vite obtenu en multipliant cette moyenne obtenue par la surface donnée par la formule πR^2. La numération peut se faire à l'œil nu ou mieux à la loupe. D'habitude, on rapporte le nombre des microbes d'une eau au centimètre cube.

Pour que ces dernières opérations aient une précision assez satisfaisante, il est nécessaire d'avoir des boîtes à fond bien plat, de façon que la couche de gélatine ait une épaisseur à peu près semblable partout. Lorsqu'on peut compter toutes les colonies, cette précaution n'est pas nécessaire.

Les chiffres obtenus sont certainement inférieurs aux chiffres réels; nous savons en effet que plusieurs espèces demandent un temps plus long pour se développer, d'autres ne croissent même pas dans la gélatine. D'un autre côté, lorsqu'on utilise des dilutions, si une petite erreur est commise dans la numération, elle se trouve considérablement grossie dans les opérations ultérieures; elle n'a toutefois souvent qu'une importance minime, par la raison qu'ici les unités sont toujours d'un ordre très élevé.

Si la gélatine a des avantages comme milieu de culture pour la confection des plaques, elle a aussi des inconvénients. Les principaux sont la liquéfaction rapide du milieu par certaines espèces et l'impossibilité de soumettre les cultures à une température convenable.

Certaines espèces produisent une liquéfaction si rapide de la gélatine qu'il devient impossible d'utiliser les plaques parfois dès le troisième ou quatrième jour des cultures. A ce moment, beaucoup de colonies n'ont pas apparu ou sont encore trop petites pour pouvoir être facilement reconnues. Les résultats obtenus sont inexacts.

D'un autre côté, l'impossibilité de mettre les cultures à l'étuve, à une température favorable au bon développement de la plupart des germes, fait que l'apparition et l'accroissement des colonies sont toujours relativement lents. Il est difficile de se faire vite une idée, même approximative, du nombre des colonies à obtenir. C'est un grand obstacle lorsque le temps presse.

Aussi, a-t-on cherché à remplacer la gélatine par la gélose dans la confection des plaques (1). Nous avons vu précédemment (p. 233) quels étaient les inconvénients du procédé qui prive surtout de caractères précieux pour la diagnose. On se sert d'une gélose contenant 1,25 p. 100 de produit sec, peptonisée à 2 p. 100, que l'on ensemence à 40° au maximum avec l'eau à analyser et que l'on coule dans des boîtes de Petri mises ensuite à l'étuve vers 37°, le couvercle en bas. Le développement

(1) Hesse et Medner, Die Methodik der bakteriologischen Wasseruntersuchung (*Zeitschr. für Hygiene*, XXIX, 1898, p. 454).

se fait beaucoup plus rapidement qu'avec les plaques de gélatine; en trente-six à quarante-huit heures, on a avec la gélose le même nombre de colonies qu'en six à huit jours avec la gélatine. L'absence de liquéfaction permet de conserver les cultures pendant trois semaines ou plus et d'observer, par conséquent, le développement de microbes très longs à végéter, qui ne viennent pas sur les cultures de gélatine ne pouvant se conserver assez longtemps. Malgré ces avantages réels, beaucoup continuent à préférer l'emploi courant de la gélatine, réservant la gélose pour des cas spéciaux.

Pour éviter le plus possible l'apport de germes étrangers par l'air, on a proposé de solidifier la gélatine des diverses dilutions à l'intérieur de vases fermés. Ch. Girard emploie les flacons d'Erlenmeyer coniques, à fond large et plat; 10 centimètres cubes de gélatine sont introduits dans chacun des flacons qui sont fermés par un tampon d'ouate et portés dans les appareils à stériliser. Les dilutions se font comme dans les tubes; on laisse la gelée se prendre en une couche qui occupe le fond du vase. Les colonies se développent; la numération se fait en plaçant le flacon sur un papier quadrillé comme précédemment. Mais il est difficile, souvent même impossible, de pouvoir étudier de près et directement les différentes colonies qui se développent dans la gélatine; il est trop chanceux de pouvoir se procurer des parcelles de colonies sans léser les voisines.

Esmarch conseille (Voy. p. 233) de solidifier la gélatine à l'intérieur d'une grosse éprouvette où s'est fait le mélange. Il est difficile d'atteindre les colonies et lorsqu'il se trouve, ce qui arrive presque constamment ici, des espèces qui liquéfient la gélatine, le liquide produit coule aussitôt et vient troubler l'expérience.

Miquel se sert de cristallisoirs plats, à couvercle portant un orifice, dans lequel se place, à frottement dur, un bouchon prolongé en un tube mince comme celui des ballons Pasteur. C'est une modification très avantageuse des cristallisoirs dits de Petri. L'appareil est stérilisé avec la gélatine; l'ensemencement se fait par l'orifice. Les cultures sont ainsi bien moins exposées à la contamination par l'air; mais l'appareil est coûteux et fragile.

La modification proposée par Malpert-Neuville (1) est beaucoup moins heureuse et est à rejeter de la pratique. Il répand la gélatine en couronne sur la plaque, met l'eau à examiner dans le vide central et fait le mélange sur la plaque elle-même avec un fil de platine stérilisé. Outre que cette méthode expose à une plus grande contamination par les germes de l'air, il n'est pas possible d'arriver à un mélange parfait, de répandre régulièrement les germes dans la masse. Les dilutions se font naturellement d'avance, dans de l'eau ou du bouillon stérilisés. L'auteur cité propose ce procédé pour éviter l'erreur pouvant résulter de ce qu'il reste toujours de la gélatine dans le tube où s'est opérée la dilution. Il est plus simple, lorsqu'on veut en tenir compte dans une numération, de laisser solidifier le restant de gelée dans le tube lui-même, placé horizontalement, et de compter ensuite les colonies qui s'y développent pour faire entrer leur nombre dans le chiffre total.

(1) Malpert-Neuville, Examen bactériologique des eaux naturelles. Traduit du *Zeitschr. für anal. Chemie* de Fresenius, 1886 (*Ann. d'hyg.*, 1887).

Arloing (1) a décrit, sous le nom d'*Analyseur bactériologique*, un instrument très compliqué, destiné, selon lui, à obvier à une partie des inconvénients du procédé ordinaire des cultures sur plaques et spécialement à éviter la contamination par l'air ou à faire reconnaître facilement les germes étrangers, apportés par cette voie. L'eau à examiner est placée dans une pipette exactement graduée, effilée en pointe capillaire et donnant des gouttes égales et assez espacées. L'eau est plus ou moins diluée suivant sa teneur en Bactéries, qu'il est nécessaire d'apprécier d'avance d'une manière très approchée. Lorsqu'on veut faire des cultures dans des ballons de bouillon, on répartit le liquide goutte par goutte dans la série de vases, comme le fait Miquel. Mais c'est pour les cultures sur gélatine que la technique se complique. La gélatine est étalée d'abord sur une plaque de verre de 12 centimètres de long sur 5 de large, divisée, par des traits au diamant, en soixante carrés égaux de 1 centimètre de côté. Cette plaque ainsi garnie est transportée dans une boîte rectangulaire en cuivre, munie d'un couvercle formé de deux lames de verre, mobiles autour de charnières placées sur les côtés les plus étroits de la boîte. Ces deux valves ne se juxtaposent pas, mais laissent entre elles un petit couvre-joints en cuivre de 7 millimètres de large, pourvu au milieu d'un orifice étroit, par où l'on peut faire passer l'extrémité capillaire de la pipette. A l'aide d'un mécanisme très ingénieux, commandé par un pignon placé à l'extérieur sous la main de l'observateur, on peut faire passer successivement sous l'extrémité de la pipette tous les carrés de la plaque de gélatine. Une goutte tombe à leur centre. Lorsque la répartition est achevée, on retire la pipette, on enlève la plaque et on la dispose dans la chambre humide. Les gouttelettes d'eau s'évaporent; les germes qu'elles renferment s'appliquent à la surface de la gelée et s'y développent dans la partie centrale de chaque carré. C'est à cette situation que l'on reconnaîtra les germes de l'eau de ceux déposés accidentellement par l'air. Or, il n'y a aucune raison pour que les germes de l'air se déposent plutôt à la périphérie du carré qu'à son centre ; toute la surface de chacune des divisions a des chances égales de contamination. De plus, l'expérience des laboratoires démontre que, quand on prend toutes les précautions voulues pour la confection des plaques, ce n'est pas au début que la contamination par l'air se fait dans de larges limites, alors que les plaques restent enfermées dans les chambres humides soigneusement stérilisées, mais qu'elle se remarque surtout quand on manie les cultures pour les examiner. Enfin, on n'a plus les caractères des colonies se développant dans l'intérieur même de la gelée, si importants et souvent si caractéristiques, qui donnent une grande partie de sa valeur au procédé de cultures sur plaques. L'appareil proposé par Arloing a le grand défaut de compliquer extraordinairement la technique, sans donner en échange des avantages suffisamment compensateurs.

En somme, c'est encore la méthode originale de Koch, surtout avec l'emploi de boîtes de Petri, qui est à préférer, comme la plus simple et la plus générale. On arrive bien vite, d'ailleurs, avec de l'habitude

(1) Arloing, Analyseur bactériologique pour l'étude des germes de l'eau (*Arch. de phys.*, 1887, n° 7, p. 276).

et un peu de minutie, à obvier pour une bonne partie aux inconvénients cités.

Recherche des anaérobies.

Il est un groupe de Bactéries que l'on ne peut jamais espérer pouvoir isoler de cette façon : ce sont les espèces *anaérobies*. On n'a que très peu de données certaines sur la présence ou l'absence de telles espèces dans les eaux; elles ne doivent cependant pas faire défaut. Leur étude, qui serait d'un haut intérêt, nécessite l'emploi de méthodes spéciales ; la technique indiquée par Roux (p. 241) donne en particulier de bons résultats. Miquel conseille simplement de se servir de tubes contenant de la gélatine préalablement bouillie, recouverte d'une couche de vaseline liquide stérilisée. L'eau est introduite dans la gelée fondue, à l'aide d'une pipette stérilisée. L'emploi de petits tubes, d'après le procédé de Vignal (p. 236), donne de très bons résultats. Les colonies se développent lentement et sont facilement comptées. Pour en prélever, il faut sacrifier la culture et briser le tube. Cette recherche des anaérobies demande naturellement des cultures spéciales qui se font à l'aide de l'un des appareils décrits page 234 et suivantes. Ces espèces paraissent, du reste, être rares dans les eaux de source et de rivières; elles sont, par contre, fréquentes dans les eaux d'égout et beaucoup d'eaux de vidange industrielles. Nous verrons que l'inoculation aux animaux des dépôts des eaux permet d'obtenir certains anaérobies pathogènes.

Les colonies qui se sont développées dans les cultures servent à obtenir des cultures pures en procédant comme il a été dit précédemment (p. 242). C'est en se basant sur les caractères observés qu'on peut rapporter les Bactéries isolées aux diverses espèces décrites jusqu'ici. C'est là, bien certainement, le point le plus délicat de l'analyse bactériologique de l'eau, pour lequel il faut être préparé de longue main par des études consciencieuses. C'est aussi, il faut le reconnaître, le résultat le plus important des recherches, puisqu'il permet de poser des conclusions assurées. On devra, pour y parvenir, mettre en œuvre tous les moyens qui permettent d'arriver à une détermination certaine des espèces. Les formes successives que peuvent prendre les colonies en culture sur plaques sont d'une grande importance ; la manière dont le microbe se comporte en cultures pures, sur les différents milieux habituels, fournit de précieux renseignements ; on peut même avoir à essayer les réactions de coloration les plus employées ou chercher à se rendre compte des modifications apportées dans la composition chimique des milieux ; enfin, l'inoculation aux animaux d'expérience donne de très utiles indications. Souvent, pour asseoir convenablement une diagnose, dans les cas importants, il est nécessaire de recourir à la constatation de tous ces caractères; alors, les moindres détails peuvent servir, aucun n'est à négliger.

Procédés spéciaux d'isolement de certaines espèces.

Il est possible d'arriver à isoler assez rapidement certaines espèces intéressantes, très résistantes à l'égard de certains agents nuisibles, en

détruisant les autres ou les empêchant de végéter par l'action de ces agents. Les réactifs employés sont principalement la chaleur et les antiseptiques.

Chaleur. — C'est en faisant agir une température assez élevée que Pasteur isole le *Vibrion septique*, qui doit certainement se rencontrer dans bien des eaux. En soumettant, pendant quelques minutes, l'eau ou son sédiment à une chaleur de 90°, la plupart des germes périssent; certains résistent, et entre autres le *Vibrion septique*; le liquide ou le résidu, inoculé sous la peau d'un lapin, occasionne, s'il contient cette dernière espèce, une septicémie véritablement typique. C'est encore en usant de la chaleur que Miquel isole certains Bacilles ferments de l'urée des Microcoques qui les accompagnent et ont une action identique sur l'urée.

Rodet, ayant observé que le *Bacille typhique* et le *Colibacille* continuent à végéter jusqu'à 45°, température à laquelle la plupart des Bactéries de l'eau ne croissent pas, a proposé de mettre à profit cette particularité pour rechercher dans l'eau ces intéressantes espèces. En ensemençant une certaine quantité d'eau, une vingtaine de gouttes, dans des ballons de bouillon maintenus à l'étuve à 45°, si le bouillon se trouble c'est que l'on a affaire au *Bacille typhique*, au *Colibacille* ou à quelques autres espèces que l'on peut reconnaître à l'aide des différents caractères.

Antiseptiques. — L'addition d'une faible quantité de substances antiseptiques, qui arrêtent le développement de la plupart des espèces en n'en laissant végéter qu'un petit nombre, peut rendre de très grands services. Pour faciliter la recherche du *Bacille typhique*, Chantemesse et Widal ont heureusement mis à profit la résistance que ce microbe possède à l'égard de l'acide phénique. En ajoutant à la gélatine employée pour la confection des plaques, avant d'y mêler l'eau ou les produits à étudier, une faible quantité d'acide phénique, quatre ou cinq gouttes de solution d'acide phénique à 5 p. 100, on parvient à arrêter ou à ralentir la croissance de beaucoup de colonies, en particulier de celles de la plupart des espèces liquéfiantes qui détruisent si rapidement les cultures sur plaques, souvent même avant que les colonies de l'espèce pathogène en question soient reconnaissables, alors que ces dernières continuent à croître, bien que plus lentement.

Vincent a très heureusement associé les deux méthodes précédemment citées et a institué de la sorte un procédé de recherche du *Bacille typhique* dans les eaux, d'une très grande commodité d'application. Il fait intervenir simultanément l'action d'une température assez élevée et celle de l'acide phénique. Voici la technique qu'il indique : On ensemence, avec une petite quantité de l'eau à examiner, de cinq à quinze gouttes, cinq à six tubes de bouillon auxquels on a ajouté une goutte de solution d'acide phénique à 5 p. 100 pour 2 centimètres cubes de bouillon; on couvre d'un capuchon en caoutchouc et on porte à l'étuve ou au bain-marie à 43-44°. De huit à douze heures après, le bouillon peut se troubler; on ensemence alors, avec une goutte du liquide, cinq ou six tubes de bouillon phéniqué, préparés comme les premiers, qu'on porte en étuve à 43°. En même temps, on ensemence, avec ce même liquide, des milieux habituels, gélatine et pomme de terre. On peut avoir du *Bacille typhique* pur dès les premières cul-

tures. D'autres fois, il faut faire une troisième épuration dans le bouillon phéniqué. Un certain nombre d'autres microbes peuvent cependant persister. Vincent cite, parmi ces derniers, un *Streptocoque*, le *Bacillus mesentericus vulgatus*, le *Bacillus subtilis*, mais rarement. Je puis en ajouter plusieurs autres, surtout le *Bacille rouge de Globig* si résistant, et un Microcoque dont la culture sur pomme de terre ne diffère que peu de celle du *Bacille typhique*, est simplement un peu plus blanche et un peu verruqueuse. Ces espèces se différencient facilement par leur forme, leurs cultures et surtout la liquéfaction de la gélatine. Mais, le *Bacillus coli communis* résiste aussi, plus longtemps même que le *Bacille typhique* ; on est forcé de séparer ces espèces sur plaques. Cette recherche spéciale du *Bacille typhique* et du *Colibacille* dans les eaux a, du reste, été étudiée précédemment avec grands détails (p. 716 et suivantes) ; il suffit d'y renvoyer le lecteur.

Milieux spéciaux. — D'après bien des observateurs, surtout Koch, Metschnikoff, Sanarelli, l'emploi des *solutions de peptone ssalées* (p. 1027 et 1052) permet d'isoler facilement des eaux le *Spirille du choléra* et des *Vibrions cholérigènes* dont plusieurs lui ressemblent fort. La technique à mettre en œuvre est des plus simples. Sanarelli (1) recommande d'opérer sur de grandes quantités d'eau : 200 centimètres cubes de l'eau à examiner sont versés dans un ballon stérilisé, suffisamment volumineux pour que la surface de l'eau ait un large contact avec l'air; on y ajoute 10 centimètres cubes d'une gelée renfermant pour 100 d'eau :

Gélatine	20	grammes.
Peptone sèche	10	—
Chlorure de sodium	10	—
Nitrate de potasse	1	gramme.

A l'étuve, à 37°, les Vibrions se développent très vite dans un tel milieu. Même si l'eau n'en renferme qu'une très petite quantité, après douze heures ils forment à la surface un voile mince et étendu qu'on peut même ne reconnaître qu'à l'examen microscopique.

Pour les isoler, on peut faire des passages successifs sur un même milieu, en réensemençant de six heures en six heures, ou recourir à l'emploi des cultures sur plaques.

Les réactions spéciales, surtout la réaction du rouge de choléra et l'inoculation intrapéritonéale au cobaye, sont ici un complément indispensable de toute recherche.

Pour les espèces à besoins tout spéciaux, il faut employer des milieux particuliers ; on peut donner comme exemple les espèces produisant la nitrification, obtenues par Winogradsky, ne pouvant végéter que dans des milieux absolument dépourvus de matière organique (p. 443).

Inoculations aux animaux. — L'étude de l'action qu'exercent, sur l'organisme vivant, les microbes d'une eau, pris en masse, peut donner de très bonnes indications sur la qualité des Bactéries qu'elle contient, sans forcer à passer par la filière assez longue et compliquée des méthodes d'isolement. L'expérience démontre en effet que les eaux de pureté assurée, bonnes pour l'alimentation de l'homme, sont, dans ces

(1) Sanarelli, Les Vibrions des eaux et l'étiologie du choléra (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 693).

conditions, inoffensives pour les animaux. Les eaux polluées, au contraire, sont nettement pathogènes; évidemment, l'action pathogène, ici, est due à la présence du *Colibacille* ou des espèces voisines, *Bacille typhique*, *Bacillus lactis aerogenes*, *Pneumobacille de Friedlaender*, *Bacille pyocyanique*, ou à celle de *Vibrions cholérigènes*.

Blachstein (1) a érigé le premier ces recherches en méthode. Il ensemence 10 centimètres cubes de bouillon avec 1 centimètre cube de l'eau à examiner et, après deux jours à l'étuve, injecte 1 ou 2 centimètres cubes dans la veine de l'oreille des lapins, 1/2 centimètre cube dans le péritoine des cobayes et $0^{cc},2$ sous la peau des souris.

G. Pouchet (2) a heureusement modifié cette manière de faire. Il ensemence, avec 30 centimètres cubes de l'eau à étudier, des ballons contenant 10 centimètres cubes de bouillon peptonisé, puis laisse huit jours à l'étuve. Au huitième jour, on fait à un cobaye une injection intrapéritonéale de $0^{cc},3$ à $0^{cc},5$ de la culture pour 100 grammes d'animal. On observe soigneusement l'animal, surtout au point de vue de sa température. La réaction peut être nulle ou de minime importance; elle peut, au contraire, être très marquée, l'animal succombe en vingt-quatre à trente-six heures. Dans ce cas, l'autopsie est faite avec soin; on fait des cultures avec le sang et le suc des organes. Ces cultures sont ensuite étudiées de la façon habituelle.

L'inoculation à l'animal des dépôts abandonnés par les eaux peut aussi fournir des renseignements utiles. Elle montre, par exemple, la présence d'espèces pathogènes anaérobies, *Bacille du tétanos* ou *Vibrion septique*, que ne décèleraient pas les méthodes ordinaires de culture.

En résumé, l'emploi d'une seule méthode ne permet guère de se prononcer, avec suffisamment d'assurance, sur la valeur d'une eau au point de vue bactériologique; il est nécessaire de mettre concurremment en œuvre plusieurs méthodes de recherche. Les cultures sur plaques de gélatine, faites dans de bonnes conditions, permettront d'arriver à une numération suffisamment exacte des germes vivants que l'eau peut contenir. Les cultures ultérieures permettront de les déterminer. L'emploi des bouillons phéniqués fera aisément reconnaître les espèces peu nombreuses qui y végètent; celui des solutions salées de peptones donnera vite des Vibrions. L'importance de ces deux méthodes est grande au point de vue des espèces du groupe du *Colibacille* pour la première, et des *Vibrions cholérigènes* pour la seconde. L'inoculation à l'animal des microbes de l'eau, pris en masse, sera aussi d'un excellent appoint. En s'appuyant sur les résultats ainsi obtenus, il sera alors possible de formuler des conclusions sérieuses et bien établies.

Puisage et transport de l'eau.

L'eau à examiner est rarement à la portée immédiate de l'expérimentateur. Comme elle doit subir un transport plus ou moins long, il est nécessaire de la recueillir dans des vases préparés à cet effet, ne contenant aucun germe pouvant troubler les résultats. Des tubes, des ballons

(1) Blachstein, Contribution à l'étude microbique de l'eau (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 689).

(2) G. Pouchet et Bonjean, Contribution à l'analyse des eaux potables (*Ann. d'hyg* février et juillet 1897).

ou des flacons de petite taille suffisent d'ordinaire; ils sont stérilisés d'avance à 150°, bouchés à l'ouate et entourés de papier blanc, puis bouchés après refroidissement avec des bouchons stérilisés ou soigneusement flambés. Le plus souvent, il suffit de remplir un ou deux flacons de 150 à 200 grammes pour faire face à toutes les nécessités; de plus grandes quantités d'eau ne sont utiles que pour certaines recherches spéciales. Les vases sont remplis à l'orifice de débit, après avoir laissé couler un premier jet destiné à emporter les impuretés attachées à cette partie de la conduite, si l'écoulement n'est pas continu, puis refermés aussitôt. Lorsqu'il s'agit d'une nappe d'eau, les flacons qui ont été stérilisés, bien enveloppés de papier, sont sortis et plongés, à l'aide d'une pince stérilisée, dans le liquide, puis retirés pleins et bouchés. On peut se servir avec grand avantage de ballons dont le col a été étiré en longue pointe au chalumeau ; ces ballons sont fortement chauffés, puis fermés au feu encore chauds. Il y a donc un vide relatif dans leur intérieur. La pointe, plongée dans l'eau, est brisée avec une pince stérilisée, le liquide pénètre en quantité plus ou moins grande dans l'intérieur ; la partie effilée est refermée à la flamme. A destination, la pointe est passée au feu, pour détruire les germes qui auraient pu s'y fixer, puis cassée avec une pince stérilisée, ou avec un trait de lime et un charbon rouge. Il est tout aussi commode de se servir de petites ampoules de verre, prolongées de chaque côté en une pointe effilée, qu'on peut facilement fabriquer soi-même au chalumeau. On se sert le plus souvent des flacons ordinaires de pharmacie. Lorsqu'on ne dispose pas d'étuve sèche, on peut les chauffer dans un coffre à fourneau ordinaire, ou encore les rincer plusieurs fois à la liqueur de Van Swieten et enlever les traces de sublimé par plusieurs rinçages à l'alcool, puis à l'eau que l'on doit prélever. Aucune des rigoureuses précautions indiquées n'est à négliger lorsqu'on désire obtenir les meilleurs résultats possibles.

Lorsqu'il est possible de mettre l'eau en culture aussitôt le prélèvement opéré, il est à recommander de le faire. Lorsque l'eau se trouve loin du laboratoire, il faut réduire le plus possible la durée du transport et chercher à obvier aux inconvénients que peut occasionner un séjour plus ou moins long du liquide dans des conditions autres que celles où il se trouve à son état normal. La question du transport de l'eau est plus compliquée qu'elle ne paraît l'être de prime abord. Il peut en effet arriver que l'on observe des différences très sensibles dans la teneur en germes ou dans la nature des espèces isolées de l'eau prise à l'endroit même où elle est utilisée, et la même eau mise en vases fermés et transportée plus ou moins loin de son lieu d'origine. Il y a la plupart du temps plus de Bactéries, en chiffre brut, dans le second cas ; on peut cependant en trouver moins, certaines espèces ont même disparu. Beaucoup de Bactéries, voire des pathogènes, végètent très bien dans l'eau ordinaire, peu riche en matières organiques. Wolffhügel et Riedel, dans un travail déjà cité, ont montré que le *Bacille du charbon* vivait et croissait très bien dans l'eau de boisson ordinaire à des températures favorables, sans se laisser étouffer par les espèces saprophytes. Certaines Bactéries même, comme Meade Bolton (1) l'a prouvé pour

(1) MEADE BOLTON, Ueber das Verhalten verschiedener Bacterienarten im Trinkwasser (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 1886, p. 76).

deux espèces communes de l'eau, le *Micrococcus aquatilis* et le *Bacillus erythrosporus*, pullulent dans l'eau distillée, se contentant de proportions de matières alimentaires bien minimes, peut-être de la faible quantité de milieu de culture apportée lors de l'inoculation. Cette puissance de végétation est fonction de la température et de la durée entre la prise d'échantillon et la mise en expérience. La multiplication, assez rapide vers 15° et au-dessus, diminue en même temps que le degré de chaleur baisse; elle est assez faible vers 10°, 8°, peu sensible au-dessous de 5°; elle paraît nulle à 0°. Aussi, pour une analyse rigoureusement exacte, pour une numération aussi approchée que possible, est-il nécessaire de maintenir les échantillons d'eau à basse température en les entourant de glace. Le froid n'est en rien nuisible à la vitalité des germes; la congélation de l'eau même qui les renferme n'a pas d'effet nuisible sur eux, pourvu qu'elle ne soit pas prolongée. Quelques espèces, plus exigeantes au point de vue alimentaire, ou moins résistantes à la concurrence des saprophytes, disparaissent rapidement; c'est le cas du *Spirille du choléra* qui est toujours mort après deux semaines de séjour dans l'eau ordinaire. Si l'eau reste longtemps dans des bouteilles bien remplies et hermétiquement fermées, l'oxygène qu'elle contient est rapidement consommé; les Bactéries aérobies vraies, celles de certaines putréfactions par exemple, ne trouvant plus ce gaz qui leur est absolument nécessaire, tombent en vie latente, donnent des spores lorsqu'elles le peuvent, ou périssent assez vite. C'est une cause de diminution dans le nombre des colonies qui se développent, voire même une cause de disparition complète de certaines espèces très exigeantes en oxygène. On y obvie en ne remplissant pas totalement le vase; il est vrai qu'on risque alors d'introduire quelques germes de l'air, mais la contamination est insignifiante si l'on a soin d'opérer dans une atmosphère calme, n'ayant pas de poussières en suspension. Toutefois, il n'est jamais à conseiller de trop prolonger cette conservation de l'eau, même dans la glace; deux ou trois jours doivent être un maximum qu'il ne faut pas dépasser. On ne peut plus espérer avoir des résultats précis en opérant sur des eaux ainsi conservées une ou plusieurs semaines.

Les Bactéries pathogènes des eaux.

La liste des Bactéries pathogènes, signalées jusqu'ici dans l'eau, se fait de jour en jour plus longue.

Il est certain que d'autres espèces, qu'on n'y a jamais constatées, doivent aussi s'y rencontrer vu leur grande dissémination ; le *Bacille de la tuberculose*, le *Bacille de la diphtérie* sont assurément dans ce cas.

Nous avons vu précédemment (p. 707) que la présence du *Bacille typhique* dans l'eau était un fait absolument acquis ; il concorde du reste avec de nombreuses observations cliniques démontrant le rôle que joue souvent l'eau de boisson dans la dissémination de la fièvre typhoïde. Le *Colibacille* et les espèces voisines, le *Pneumobacille de Friedlaender* et le *Bacillus lactis aerogenes*, y sont aussi fréquents et il n'est plus possible aujourd'hui de leur refuser le caractère pathogène. La recherche dans l'eau et le diagnostic de ces microbes ont été traités précédemment avec détails (p. 719 et 724) à cause de l'importance de la question.

Ces espèces viennent sans aucun doute de contamination par les matières fécales ; et que cette contamination soit d'origine humaine ou d'origine animale, elle n'en peut pas être moins dangereuse pour l'homme et d'une moindre valeur comme indice de pollution. Aussi, toute eau qui renferme de ces espèces, et c'est surtout le *Colibacille* que décèlent rapidement les méthodes d'analyse employées, doit-elle être considérée comme suspecte (1).

Le *Spirille du choléra* et un assez grand nombre de *Vibrions cholérigènes* ont aussi été signalés dans l'eau. La virulence de ces derniers n'est plus à mettre en doute depuis les expériences si démonstratives de Metschnikoff et de Sanarelli (p. 1051 et suiv.). Aussi, les eaux qui en contiennent peuvent être dangereuses pour l'alimentation. Le rôle des eaux de boisson dans la dissémination du choléra et des affections cholériformes est aussi un fait établi par l'observation clinique. L'origine de ces microbes, comme celle de la précédente catégorie, doit certainement être recherchée dans les matières fécales de l'homme ou des animaux.

Plusieurs microbes pyogènes peuvent se rencontrer dans l'eau. Pasteur a isolé de l'eau de la Seine son *Vibrion pyogène*, anaérobie facultatif, qui, introduit dans le sang des lapins, les fait périr avec les symptômes d'une grave pyémie. Nous avons vu qu'on pouvait fréquemment isoler des eaux exposées aux contaminations le *Staphylocoque doré* (p. 339), le *Staphylocoque blanc* (p. 348), le *Streptocoque pyogène* (p. 349), le *Micrococcus cereus albus* (p. 362). Ces espèces indiquent nettement une contamination par des détritus provenant de l'homme ou d'animaux.

Le *Bacille pyocyanique* a été constaté dans l'eau (p. 852) ; il vient aussi, bien probablement, du contenu intestinal. C'est une espèce à signification mauvaise (2).

Koch et Gaffky ont rencontré dans l'eau putride de la Panke le *Bacillus murisepticus*, d'une très grande virulence pour la souris (p. 825). Sanarelli a isolé de l'eau le *Bacille de la septicémie gangreneuse de la grenouille* (p. 873), très pathogène pour les grenouilles et bien des poissons.

Le *Bacille du charbon* doit assurément se trouver fréquemment dans les eaux de surface des régions infectées. Diatroptoff (3) l'a isolé de la vase du fond d'un puits d'une ferme où régnait une épizootie de fièvre charbonneuse.

Nous avons vu que le *Bacille du tétanos* avait été rencontré plusieurs fois dans les dépôts vaseux abandonnés par des eaux (p. 654). Le *Vibrion septique* existe aussi dans les mêmes conditions.

Enfin, Lortet et Despeignes (4) ont obtenu des affections septicémiques encore indéterminées à la suite d'inoculations aux cobayes des dépôts vaseux des eaux des galeries filtrantes du Rhône.

(1) Freudenreich, De la recherche du *Bacillus coli* dans l'eau (*Ann. de micr.*, VIII, 1896, p. 414).

(2) Bonjean, Le Bacille pyocyanique dans les eaux d'alimentation (*Ann. d'hyg.*, juillet 1899, p. 28).

(3) Diatroptoff, Bactéries charbonneuses dans la vase du fond d'un puits (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 286).

(4) Lortet et Despeignes, Recherches sur les microbes pathogènes des eaux potables distribuées à la ville de Lyon (*Revue d'hyg.*, XII, 1890, p. 398).

Les microbes de ces dernières catégories proviennent sans doute de la pollution de l'eau par le sol où de telles espèces se rencontrent.

Il est enfin intéressant de reconnaître certaines espèces propres aux putréfactions des matières albuminoïdes qui, si elles ne sont pas directement nuisibles, et ce n'est pas prouvé aujourd'hui, doivent être redoutées à cause de la toxicité des produits qu'elles forment. Beaucoup sont certainement d'un mauvais indice pour la pureté de l'eau, tout particulièrement les *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis* ; elles doivent faire penser à une contamination par des matières animales putréfiées, où on les rencontre d'ordinaire.

Le *Bacillus fluorescens liquefaciens*, le *Bacillus violaceus* sont aussi dans le même cas. Le *Bacillus fluorescens putridus* ne se rencontre que dans des eaux souillées par du purin ou des fumiers; il est bien voisin du *Bacille pyocyanique* et semble devoir recevoir la même signification que lui. Le *Bacillus Zopfii* doit aussi faire penser à des pollutions putrides. Le *Bacillus mycoides*, les *Cladothrix* proviennent d'un contact suspect avec des sols chargés de matières organiques et d'une filtration incomplète.

Teneur des eaux en Bactéries.

La richesse en Bactéries des eaux de provenance diverse varie dans de très larges limites. Le tableau suivant, emprunté à Miquel, obtenu avec des eaux de Paris, peut permettre de se faire une idée des nombres bruts obtenus dans des cas bien différents :

Eau de pluie........................	35	Bactéries par centimètre cube.
Eau de la Vanne....................	62	— — —
Eau de la Seine à Bercy..............	1 400	— — —
Eau de la Seine à Asnières...........	3 200	— — —
Eau d'égout prise à Clichy..........	20 000	— — —

On saisit facilement le grand rôle de la contamination dans la teneur en germes de ces différentes eaux.

En général, la simple indication du nombre de Bactéries que peut contenir une eau pour une unité donnée, qui est d'ordinaire le centimètre cube, ne peut pas fournir de renseignements précis sur la valeur de cette eau, sauf dans les cas où la teneur est déjà fort élevée. Ce qui sert plus, c'est de déterminer les espèces intéressantes dont la présence peut amener à tirer des conclusions, et surtout de reconnaître celles qui sont nuisibles. On est cependant conduit, par une longue expérience faite avec les mêmes méthodes, à établir des catégories basées sur le seul nombre de microbes que l'eau peut contenir. On peut, par exemple, admettre, à ce point de vue, le classement suivant, qui paraît assez conforme aux moyennes obtenues dans une longue série d'examens faits à l'aide des cultures sur plaques de gélatine :

Eau très pure...........	contient de	0	à	20	Bactéries par centimètre cube.
Eau très bonne..........	—	20	à	100	— — —
Eau bonne...............	—	100	à	300	— — —
Eau passable ou médiocre.	—	300	à	500	— — —
Eau mauvaise............	—	500	à	1 000	— — —
Eau très mauvaise.......	—	1 000	à	10 000	— — —

Il va sans dire que pour les eaux des premières catégories, la présence d'une espèce dangereuse ou même suspecte doit suffire pour changer l'appréciation et même les faire ranger dans les eaux de la dernière classe, à rejeter tout à fait de la consommation.

L'emploi des cultures en bouillon de Miquel permettant la végétation d'un plus grand nombre d'espèces bactériennes, il faudra, dans ce cas, élever notablement, du double peut-être, les chiffres servant à établir les catégories ci-dessus énoncées.

Nous savons que la congélation n'a souvent pas d'effet sur les Bactéries. L'action du froid varie cependant suivant l'espèce (Voy. p. 71 et suiv.). Ainsi, d'après les expériences de Prudden (1), tandis que le *Micrococcus pyogenes aureus* et le *Bacillus typhosus* résistent à la congélation pendant un temps très long, le premier étant encore bien vivant après soixante-six jours, le second n'ayant pas sensiblement diminué après cent huit jours, le *Micrococcus prodigiosus* et le *Proteus vulgaris* de Hauser sont morts au bout de cinq jours de congélation continue. Des congélations successives sont du reste plus nuisibles qu'une congélation prolongée. Il résulte de là que l'usage de la glace contenant une grande partie des Bactéries renfermées dans de l'eau contaminée peut être aussi nuisible que celui de l'eau elle-même. Il faut donc rejeter de l'alimentation la glace provenant d'eaux de rivières, de canaux ou stagnantes; elle est toujours d'une impureté manifeste, comme l'ont prouvé avec la dernière évidence les recherches de Fraenkel (2).

Bactéries des eaux minérales.

Les eaux minérales (3), froides ou chaudes (4), renferment aussi fréquemment des Bactéries. On en trouve dans des eaux à température très élevée, de 50° à 60° et au-dessus ; certaines espèces, nommées *Bacilles thermophiles* (p. 989), ne croissent même qu'à ces températures élevées. On a voulu attribuer un grand rôle aux Bactéries de certaines eaux alcalines dans l'effet stimulant qu'elles exercent sur la digestion, en faisant intervenir les diastases que ces êtres sécrètent. Ce sont là des questions de pure expérimentation qui exigent pour être éclaircies des preuves directes qui sont encore à fournir.

CAHPITRE TROISIÈME

LES BACTÉRIES DU SOL

Le sol est en général très riche en Bactéries, plus riche même que les milieux précédents, qui n'offrent à ces organismes que de moins bonnes

(1) Prudden, *New York Med. Records*, 26 mars et 2 avril 1887.

(2) Fraenkel, Ueber den Bacteriengehalt des Eises (*Zeitschr. für Hygiene*, I, 2e p., p. 302, 1886).

(3) G. Pouchet, Analyses bactériologiques des eaux de Vichy, 1894. — F. Poncet, Les microbes des eaux minérales de Vichy, avec 26 planches comprenant 132 photogravures. Paris, J.-B. Baillière et fils, 1895.

(4) Karlinski, Zur Kenntniss der Bakterien der Thermalquellen (*Hygienische Rundschau*, 1895, no 15).

conditions de nutrition et de développement. La terre renferme en effet toujours des quantités de matières organiques relativement considérables par rapport à ce qu'en contient l'eau. mais surtout lorsqu'elle est souillée par des infiltrations de matières fécales, d'urines, d'eaux ménagères, de liquides putrides; elle devient alors un excellent milieu de culture pour la pullulation des Bactéries.

Le sol paraît, du reste, être bien le réceptacle naturel, obligé même, des microbes. Tous les microbes, a dit Duclaux (1), dans un excellent article, doivent exister dans le sol, car d'où viendraient-ils? Il est certain que l'étude, encore très peu avancée, des microbes du sol fera connaître bien des points intéressants de la biologie de ces organismes.

Dans le sol, en effet, se passe une série nombreuse de processus d'un intérêt capital au point de vue du maintien de la vie dans le monde. Tout vient de la terre et tout doit y retourner, a-t-on dit depuis longtemps. Mais ce qui en sort doit être, pour servir à la vie, en un tout autre état que ce qui y revient; c'est précisément dans le sol que s'opèrent les changements nécessaires. La vie des êtres divers, des animaux et de l'homme surtout, a pour effet de fixer la matière organique, sous des formes insolubles; il est nécessaire, pour la rendre à la circulation, de la rendre solubilisable en la modifiant plus ou moins profondément. La plus grande part, dans cette œuvre, revient aux microbes. Comme cette matière organique insolubilisée aboutit en très grande partie, pour ne pas dire toujours, au sol, c'est en lui que se passent surtout les processus qui la font rentrer dans le cycle de la nutrition et de la vie (2).

Ce processus de modification est un processus de simplification moléculaire. Il ne se fait pas d'un seul coup, mais graduellement, en passant par des étapes successives. Il n'y a pas une seule espèce microbienne, ou quelques espèces, conduisant le phénomène jusqu'au bout; mais plusieurs, parfois même un grand nombre, y concourent successivement. Chacune abandonne la matière quand elle a opéré la modification dont elle est capable; arrivée là, elle ne peut plus rien sur elle; elle cède la place à une autre qui peut attaquer le groupement moléculaire formé par l'action précédente et le modifier plus profondément dans le sens voulu; et ainsi de suite jusqu'au bout, à la simplification la plus avancée.

Ces actions, successives ou superposées, arrivent à un terme final, la scission de la molécule primitive en eau, acide carbonique et ammoniaque; les microbes nitrifiants doivent même encore transformer l'ammoniaque, l'azote devant être sous forme de nitrates pour devenir assimilable par la plante. Entre ces termes extrêmes, se rangent des formes intermédiaires, plus ou moins nombreuses suivant l'énergie de la transformation. Ces formes varient évidemment suivant la nature du composé de départ.

Avec des hydrocarbonés insolubles, amidon, cellulose par exemple, il se forme d'abord des corps colloïdaux comme la dextrine ou la gomme. A un degré plus avancé, on obtient des corps solubles, des sucres.

Aux dépens des sucres ou d'autres matières hydrocarbonées solubles, se forment des acides organiques végétaux, surtout acides lactique,

(1) Duclaux, La distribution de la matière organique et des microbes dans le sol (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, VII, 1893, p. 823).

(2) Wollny, Die Zersetzung der organischen Stoffe und die Humusbildung. Heidelberg, Winter, 1897.

formique, acétique, ou des acides gras dont le type est l'acide butyrique. Ces acides sont neutralisés par les bases du sol, particulièrement la chaux, et les sels formés subissent à leur tour une nouvelle décomposition qui les transforme en composés très simples; les derniers termes auxquels elle aboutit sont le carbonate de chaux, l'acide carbonique et l'hydrogène ou le gaz des marais. L'hydrogène naissant ou le carbone d'hydrogène réagit sur le sulfate de chaux du sol et donne du carbonate de chaux, de l'hydrogène sulfuré et de l'eau; l'hydrogène sulfuré s'oxyde, donne de l'eau et du soufre. Le stade ultime paraît donc être l'acide carbonique et l'eau.

Avec les matières albuminoïdes, il se passe ce qui a été étudié p. 87 sous le nom de *putréfaction*. Les formes de début sont aussi des colloïdes, les peptones; puis, l'attaque microbienne donne des corps cristallisables, leucine, tyrosine, glycocolle, etc.; à un degré ultérieur, des composés ammoniacaux, puis des nitrates; en même temps que tout cela, il se dégage de l'acide carbonique, de l'hydrogène ou d'autres produits gazeux. Finalement tout le carbone, tout l'hydrogène et tout l'oxygène de la matière albuminoïde se trouvent sous la forme d'acide carbonique et d'eau; tout l'azote peut être sous la forme d'acide nitrique.

Le carbone de l'acide carbonique est repris par la plante verte, qui le fixe sous l'influence des radiations solaires; l'azote devient réassimilable par les plantes après nitrification de l'ammoniaque ou peut être assimilé directement (p. 43); l'eau est immédiatement absorbable. La matière, usée tout à l'heure, peut rentrer dans le cycle vital; l'action des radiations solaires lui a rendu l'énergie latente.

La question de l'absorption de l'azote libre par les microbes du sol, déjà démontrée pour les organismes des nodosités radicales des légumineuses, a été tout à fait démontrée par les recherches de Berthelot et de Winogradsky qui ont reconnu cette propriété d'assimilation de l'azote gazeux à plusieurs espèces de Bactéries (Voy. p. 43).

Or, toutes ces modifications, nécessaires pour aboutir au résultat, sont produites par les microbes du sol et forcément corrélatives de leur vie et de leur végétation.

La puissance absorbante si marquée du sol à l'égard de ces composés qui représentent les diverses étapes de l'attaque de la matière organique, les retient surtout dans les couches superficielles; c'est dès lors là surtout que doivent se rencontrer les microbes qui concourent à les transformer.

Le nombre de Bactéries que renferme une terre donnée varie d'après sa richesse en principes nutritifs et certaines conditions physiques que nous savons indispensables à la vie de ces êtres, aération, humidité, température. Ces mêmes conditions président aussi à leur distribution en hauteur. Il est évident que plus on s'éloigne de la surface pour se rapprocher des couches profondes, pauvres en oxygène et moins chargées de matières organiques, plus on voit diminuer la proportion d'êtres vivants qui consomment ces principes. Ceci est surtout vrai pour les espèces aérobies vraies, qui ne sauraient végéter convenablement sans trouver à leur disposition de l'oxygène en abondance. Mais il est de nombreuses espèces qui peuvent se contenter de proportions très minimes de ce gaz et même s'en passer pendant quelque temps sans cesser

pour cela de se multiplier ; il en est même, les anaérobies, qui ne végètent qu'en son absence. Pour celles-là, les dernières surtout, les couches inférieures du sol sont encore habitables, alors que la vie des premières y est impossible. Elles doivent s'y rencontrer de préférence ; si jusqu'ici on n'a signalé la présence que d'un nombre très restreint de ces formes, c'est que la technique spéciale à leurs cultures est assez compliquée. Aussi, pour les différents auteurs qui se sont occupés des Bactéries du sol, leur nombre est-il en décroissance rapide à mesure qu'on s'éloigne de la surface. L'étude des anaérobies pourra seule démontrer la valeur de cette règle donnée un peu hâtivement comme générale. Il semble toutefois bien probable qu'à une certaine profondeur le sol est tout à fait pur de germes. C'est le corollaire nécessaire de la pureté des eaux de sources, qui émergent de couches profondes. Quant à ce degré de profondeur où la vie ne s'observe plus, il est naturellement variable avec la nature géologique du sol et surtout avec son degré de perméabilité.

L'étude bactériologique du sol nécessite l'emploi de procédés analogues à ceux mis en usage pour l'analyse de l'eau.

La méthode de Miquel, de dilutions fragmentées dans les bouillons, doit donner d'excellents résultats. Il est certain que, de même que pour l'eau, elle permettra d'isoler un plus grand nombre d'espèces, à cause de la facilité de faire varier la composition du milieu nutritif. Mais, vu la quantité de Bactéries contenues dans les sols ordinaires, il est nécessaire de pousser très loin la dilution ; c'est un des grands inconvénients de cette manière de faire, qui exige une main-d'œuvre compliquée et des laboratoires spacieux.

Le procédé des cultures sur plaques de gélatine réussit bien, sauf les restrictions admises pour l'eau. La terre à analyser peut renfermer des espèces qui ne croissent pas dans la gélatine ou ne végètent que très lentement. Il n'est en outre possible d'isoler les anaérobies qu'en recourant à une technique spéciale (p. 234).

Enfin, on doit recourir à des procédés spéciaux pour isoler certaines espèces. Ce n'est, par exemple, qu'en opérant dans des conditions particulières, parfaitement indiquées par Winogradsky (p. 441) qu'on parvient à isoler le principal ferment de la nitrification, qui joue un rôle si important dans la terre arable. Pour le *Bacille typhique*, le *Colibacille*, les méthodes particulières que l'on emploie avec succès pour la recherche de ce microbe dans l'eau donneront aussi de bons résultats (p. 719).

La terre destinée à être étudiée doit être recueillie avec les précautions voulues pour n'y pas introduire de germes étrangers ; elle doit être prise, si c'est possible, dépourvue de pierres ou d'autres corps de gros volume. La récolte des échantillons se fait facilement à la surface ou à une faible profondeur. Pour des couches un peu profondes, la main-d'œuvre se complique. On peut ouvrir une tranchée et recueillir des portions aux niveaux désignés, à l'aide de spatules stérilisées ; on prélève un cube d'une dizaine de centimètres de côté, dans l'intérieur duquel seront prises les parcelles à examiner. Lorsqu'on doit atteindre des couches profondes et que le terrain ne se prête pas à la manœuvre précédente, il faut recourir aux forages ; on se sert avantageusement

d'un trépan dont la couronne a au moins 10 centimètres de diamètre, qui ramène de la profondeur voulue une motte de terre assez grosse au milieu de laquelle on fait les prises avec les précautions voulues. Fraenkel (1), dans ses *Recherches sur les microorganismes du sol*, recommande une sorte de sonde creuse, en acier, portant à sa partie terminale un pas de vis qui aide à l'enfoncer. L'instrument, porté par un long manche, est introduit aussi loin que l'on désire; un mouvement spécial fait découvrir, au moment voulu, une ouverture pratiquée dans le noyau de la sonde et dans laquelle une ailette latérale amène un peu de terre. Un mouvement inverse referme la cavité; l'instrument est alors retiré. Si l'on a eu soin de stériliser la sonde, la terre ramenée à la surface ne contient aucun germe étranger.

La terre recueillie doit être immédiatement mise en expérience, si l'on veut être sûr des résultats, au moins des résultats quantitatifs. Dans les conditions ordinaires, en effet, à une température moyenne, il peut s'opérer une multiplication des Bactéries contenues dans l'échantillon récolté, d'autant plus considérable que la terre renferme plus de matières nutritives et que le temps qui s'écoule entre la prise d'échantillon et la mise en expérience est plus long. Les mêmes causes qui agissent sur les échantillons d'eau à analyser se retrouvent ici et produisent peut-être plus d'effet. Aussi faut-il prendre les mêmes précautions pour le transport, lorsqu'on désire avoir des résultats rigoureux et complets. Les échantillons doivent être maintenus à basse température; on peut les enfermer dans des vases stérilisés et les expédier dans la glace. Quand on veut se borner à rechercher des espèces très résistantes, le *Vibrion septique*, le *Bacille du charbon*, par exemple, et qu'on ne tient pas à une numération exacte, il est possible de simplifier les opérations. Ces espèces, en effet, résistent longtemps dans ces conditions, surtout parce qu'elles sont souvent représentées par des spores. Comme pour l'eau, du reste, l'isolation des espèces, des pathogènes surtout, est un résultat bien autrement important qu'une simple numération, sans distinction des êtres qui entrent dans le chiffre brut. On peut se contenter alors d'emballer soigneusement les grosses mottes de terre de façon à éviter leur dessiccation et leur fragmentation ou d'enfermer les petites portions dans des flacons stérilisés.

A l'aide d'une petite curette métallique jaugeant de 2 à 4 millimètres cubes, et stérilisée au feu, on prélève des portions de terre sensiblement égales dans la masse contenue dans les flacons ou dans la partie centrale de la motte qui a été coupée avec un couteau stérilisé; ou bien on pèse une très petite quantité d'une masse de terre soigneusement mélangée et pulvérisée dans des appareils stérilisés. Chacune des parcelles est soigneusement délayée dans un petit volume, 1 ou 2 centimètres cubes, de bouillon stérilisé. L'opération, qui est assez minutieuse, se fait dans un tube à essai stérilisé en triturant la masse avec une baguette de verre flambée. Quand la répartition est complète, on ajoute 10 centimètres cubes de gélatine fondue, comme pour la confection des cultures sur plaques ordinaires, ou on ajoute à de la gélatine de petites quantités de la dilution primitive; on agite doucement pour bien répartir le mélange,

(1) Fraenkel, Untersuchungen über das Vorkommen von Mikroorganismen in verschiedenen Bodenschichten (*Zeitschr. für Hygiene*, II, 3e p., p. 521, 1887).

et avec cette première dilution on en fait deux ou trois autres, selon la quantité supposée de Bactéries que contient la terre, pour obtenir des colonies suffisamment isolées les unes des autres. L'opération se termine comme pour les cultures sur plaques ordinaires. Le grand avantage de cette manière de faire est de conserver les parcelles de terre ou de sable elles-mêmes, qui retiennent souvent, par des phénomènes d'adhésion, les germes qui sont venus à leur contact. Ces germes croissent en donnant des colonies qui se distinguent facilement des particules en suspension dans la gelée par leur forme, leur développement et leur composition.

La terre renferme d'ordinaire un nombre assez élevé de Bactéries. Celle qui est riche en humus en contient beaucoup plus que celle qui est pauvre. Dans 1 gramme de terre de pré, jusqu'à 20 centimètres de profondeur, Miquel a trouvé de 7 à 800 000 Bactéries. C'est surtout la couche superficielle qui fournit un chiffre considérable. A mesure qu'on pénètre dans la profondeur, les Bactéries diminuent jusqu'à faire complètement défaut. Il n'est pas encore possible de donner de règles générales ici ; la nature et la consistance du terrain sont un facteur trop important, occasionnant des différences très grandes. Voici l'énoncé des résultats obtenus par Reimers (1) dans l'une de ses expériences, pour donner une idée des différences de la teneur en Bactéries des couches successives de terre prises au même endroit :

Terre de la surface d'un champ		....	2 564 800	germes	par cent. cube.
Terre prise	à 2 mètres	de profondeur (argile)..	23 100	—	—
—	à 3 mètres 1/2	— (gravier).	6 170	—	—
—	à 4 mètres 1/2	— (sable). .	1 580	—	—
—	à 6 mètres	— (grès). . .	0	—	—

Kramer (2) a obtenu les résultats suivants avec un sol argileux assez chargé d'humus :

A 0m,20 de profondeur	....	650 000	germes	par gramme.
A 0m,50 —	....	500 000	—	—
A 0m,70 —	....	276 000	—	—
A 1m,00 —	....	36 000	—	—
A 1m,20 —	....	5 600	—	—
A 1m,40 —	....	700	—	—
A 1m,65 —	....	quelques germes.		

Les deux tableaux suivants, dus à Fraenkel, montrent également bien, quoique d'une façon moins schématique, la décroissance des microbes de la surface vers la profondeur et font voir également la plus grande richesse des sols habités ou traités par des engrais intensifs.

Il est évident que bien des conditions interviennent qui peuvent faire varier de telles données. La nature du sol, sa richesse en matières organiques, sa perméabilité, sa teneur en humidité, sa composition chimique, doivent surtout entrer en jeu.

(1) Reimers, Ueber den des Gehalt des Bodens an Bacterien (*Zeitschr. für Hygiene*, VII, 1889).

(2) Kramer, Die Bakteriologie in ihren Beziehungen zur Landwirthschaft. Vienne, 1890.

Sol des environs de Postdam (1886-1887).

PROFONDEUR.	NOMBRE DE GERMES PAR CENTIMÈTRE CUBE.								
	21 avril.	27 mai.	12 juin.	9 juillet.	14 août.	4 sept.	20 oct.	3 nov.	16 mars.
Surface...	»	150.000	110.000	»	300.000	95.000	130.000	55.000	80.000
$0^m,50$	70.000	200.000	90.000	»	240.000	65.000	100.000	75.000	85.000
$0^m,75$	25.000	»	»	»	40.200	3.000	»	8.000	»
$1^m,00$	1.000	2.000	2.000	4.300	80.000	600	40.000	7.000	3.000
$1^m,50$	200	15.000	2.000	400	500	700	600	200	300
$2^m,00$	»	2.000	600	300	400	»	700	100	200
$2^m,50$	250	500	700	»	100	»	150	»	150
$3^m,00$	»	3.000	100	»	»	150	»	1.500	100
$3^m,50$	»	»	800	»	»	100	1.400	50	700
$4^m,00$	»	»	150	300	»	»	600	»	»

Sol de divers points habités de Berlin (1885-1886).

PROFONDEUR.	NOMBRE DE GERMES PAR CENTIMÈTRE CUBE.							
	20 juillet.	24 juillet.	7 août.	8 août.	1er nov.	6 avril.	11 nov.	Jardin.
Surface...	8.000	350.000	160.000	»	300.000	»	»	150.000
$0^m,50$	6.500	50.000	40.000	»	»	»	»	300.000
$1^m,00$	45.000	800	10.000	35.000	1.000	100.000	80.000	150.000
$1^m,50$	4.500	»	»	50.000	2.000	180.000	20.000	80.000
$2^m,00$	»	750	6.000	15.000	3.500	65.000	49.000	200.000
$2^m,50$	»	»	»	20.000	300	170.000	650	700
$3^m,00$	»	»	300	500	1.000	34.000	600	100
$3^m,50$	»	»	»	150	750	»	3.000	»
$4^m,00$	»	»	»	»	»	»	900	»

Pasteur a été le premier à isoler du sol des espèces définies. Il y a trouvé le *Vibrion septique* et le *Bacille du charbon*. Nous connaissons sa technique. Il lévige la terre de façon à en séparer les particules grossières ; l'eau de lavage est décantée, puis laissée en repos absolu. Le dépôt qui s'en sépare est légèrement acidulé, puis chauffé pendant quelques minutes à 90°, pour tuer la majeure partie des Bactéries qu'il contient. En injectant des portions de ce dépôt sous la peau de cobayes, on les voit souvent mourir du charbon ou d'une septicémie à marche rapide ; leur sang renferme l'une ou l'autre des espèces de Bactéries citées. Le *Bacille du charbon* doit pouvoir facilement s'obtenir dans les cultures sur plaques où il forme des colonies très caractéristiques ; il est toutefois nécessaire de s'assurer de toutes ses propriétés, certaines espèces du sol pouvant prêter à confusion ; l'action physiologique, facile à observer, est seule un critérium d'une sûreté absolue. Il n'en est pas de même du *Vibrion septique* dont le caractère anaérobie rend l'isolation difficile. Fraenkel, dans ses recherches consciencieuses, n'a pu le déceler que par le procédé de Pasteur, l'inoculation de la terre à des animaux.

La présence dans la terre du *Bacille du tétanos* a été démontrée par Nicolaier. J'ai rencontré dans divers échantillons de terre du *Bacille*

typhique (1), accompagné du *Bacillus coli communis*, provenant certainement tous deux d'infiltrations de matières fécales. Les *Staphylocoques pyogènes*, le *Streptocoque pyogène*, le *Bacille de la tuberculose*, ont été isolés des poussières, comme nous l'avons vu.

Yersin a rencontré le *Bacille de la peste* dans le sol d'une localité infestée (p. 838). Le *Bacillus septicus agrigenus* a été trouvé par Nicolaier dans la terre de champs fumés (p. 851).

Des Bactéries de fermentation sont très communes dans le sol; les *Microcoques* et *Bacilles ferments de l'urée* remplissent un rôle de premier ordre en transformant l'urée en carbonate d'ammoniaque. La formation d'ammoniaque, représentant la forme ultime de destruction de la matière azotée, est la conséquence de la vie d'un grand nombre d'espèces microbiennes aux dépens de la matière organique azotée (2). Beaucoup de ces espèces se rencontrent dans le sol et y abondent même souvent. Au premier rang peuvent se placer les *Bacillus mycoides, Bacillus fluorescens liquefaciens*, *Bacillus fluorescens putridus*, *Bacillus violaceus*, *Bacillus mesentericus vulgatus*, *Bacillus mesentericus ruber*, *Bacillus termo*, *Proteus vulgaris*, *Micrococcus prodigiosus*, plusieurs *Sarcines*, et avec eux des *Mucédinées*, des *Levures*, des *Formes-Levures*, des *Cladothrix*. L'ammoniaque, à son tour, sous l'action oxydante du *ferment nitrique* de Schlœsing et Müntz, action à laquelle contribuent plusieurs espèces aérobies, donne de l'acide nitrique. D'autres espèces, abondantes dans le sol, possèdent cette propriété de nitrification tantôt à un haut degré (3), tantôt bien plus faible (p. 440), mais cependant facile à constater surtout par la réaction de la diphénylamine (p. 443). Les nitrates formés avec les alcalis du sol sont des plus assimilables pour les plantes; c'est ainsi que l'azote rentre dans la circulation vitale. D'autres espèces peuvent agir au contraire comme agents réducteurs sur les nitrates produits et les ramener à l'état de nitrites; ce sont très probablement des espèces anaérobies, au premier rang desquelles il faudrait placer, d'après Dehérain et Maquenne (4), le *Vibrion butyrique* de Pasteur. Le *Bacille orthobutylique* de Grimbert (p. 955), l'*Amylobacter butylicus* de Duclaux (p. 955), divers *ferments butyriques*, sont aussi des anaérobies du sol jouant un grand rôle dans la transformation des hydrocarbonés. Les *Cladothrix* et en particulier le *Cladothrix chromogenes*, très commun dans la terre arable, attaquent énergiquement les albuminoïdes et certains hydrocarbonés. On comprend quelle est la grande importance, pour la vie des plantes, de la présence dans le sol de ces Bactéries qui leur transforment en principes très nutritifs des déchets de la vie d'êtres plus élevés, qui, sans cela, ne seraient pas du tout assimilables pour elles. La preuve la plus frappante en a été donnée par Duclaux (5), qui a montré qu'en faisant germer des graines dans un sol dépourvu de

(1) Macé, Sur la présence du Bacille typhique dans le sol (*C. R. de l'Acad. des sc.*, CVI, 1888, p. 1564).

(2) Marchal, The Production of Ammonia in the soil by Microbes (*Agricult. Science*, VIII, 1894, p. 574).

(3) Burri et Stutzer, Ueber einen auf Nährgelatine gedeihenden nitratbildenden Bacillus (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., I, p. 721).

(4) Dehérain et Maquenne, De la réduction des nitrates dans les terres arables (*C. R. de l'Acad. des sc.*, XCV, 1882, p. 691, 732, 824).

(5) Duclaux, Sur la germination dans un sol riche en matières organiques, mais exempt de microbes (*C. R. de l'Acad. des sc.*, C, 1886, p. 68).

Bactéries on n'obtenait que des individus grêles, chétifs, aussi faibles que ceux qui poussent dans l'eau pure.

Le sol renferme en outre une quantité d'autres espèces encore mal connues. Le *Bacillus mycoides* y est fréquent; on le reconnaît dans les cultures sur plaques à ses colonies ramifiées qui rappellent comme aspect un jeune mycélium de Moisissure. J'ai rencontré en abondance le *Bacillus violaceus* dans des échantillons de terre pris à 3 mètres et $3^{m},50$ de profondeur.

Une bonne partie des espèces de l'air, sinon toutes, doivent se trouver aussi dans le sol, au moins dans ses couches supérieures; c'est en effet de la surface du sol que proviennent les poussières qui contaminent l'atmosphère.

Les Moisissures paraissent être plus communes dans la terre que dans l'eau. Ce sont surtout les *Penicillium glaucum*, *Aspergillus glaucus*, *Mucor mucedo*, *Mucor racemosus*, *Mucor stolonifer*, *Oidium lactis* (1). Les Levures sont aussi fréquentes.

Quant à la vie elle-même des Bactéries dans le sol, on n'a que bien peu de données à ce sujet (2); c'est cependant un point très important pour l'étiologie des maladies infectieuses. La majeure partie des espèces à spores, en particulier, peuvent y rester vivantes pendant des années (3). Certaines espèces pathogènes doivent voir leur virulence s'atténuer sous l'influence de causes diverses; d'autres, les espèces à spores surtout, semblent pouvoir la conserver intacte pendant un temps très long, sinon indéfiniment. Pasteur a rendu charbonneux des moutons auxquels il avait inoculé de la terre recouvrant la fosse d'animaux morts du charbon douze ans auparavant. Grancher et Deschamps (4), tout en remarquant que le *Bacille typhique* amené par l'eau d'irrigation ne filtrait pas à travers le sol, mais s'arrêtait à 40 ou 50 centimètres de profondeur, ont constaté qu'il pouvait vivre un très long temps mêlé aux nombreux organismes que peut contenir la terre.

Le *Bacille du tétanos*, à spores si résistantes, se conserve très longtemps virulent dans le sol.

Cette question de la persistance de la vitalité et de la virulence des Bactéries pathogènes dans le sol a une importance considérable au point de vue de l'enfouissement des cadavres infectieux. Lösener (5), qui a fait de nombreuses expériences sur des porcs, a annoncé des résultats intéressants; mais il ne faut les considérer que comme s'appliquant aux conditions dans lesquelles il a expérimenté. Il est certain que la nature du terrain et la plus ou moins grande quantité d'eau doivent avoir une influence notable. Dans les cadavres enfouis, il a vu le *Vibrion du choléra* disparaître entièrement après 28 jours. Le *Bacille de la tuberculose*

(1) Adametz, Untersuchungen über die niederen Pilze der Ackerkrume. Thèse de Leipzig, 1886.

(2) Manfredi et Serafini, Ueber das Verhalten von Milzbrand und Cholera-Bacillen in reinem Quartz und reinem Marmorboden (*Arch. für Hygiene*, 1890).

(3) Miquel, Sur la longévité des germes des Bactéries dans les poussières et dans le sol (*Ann. de micr.*, 1897, p. 199 et 251).

(4) Grancher et Deschamps, Recherches sur le Bacille typhique dans le sol (*Arch. de méd. expér.*, I, 1889).

(5) Losener, Ueber das Verhalten von pathogenen Bakterien in beerdigten Kadaveren (*Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, XII, 1896, p. 448).

était encore facile à trouver au 60e jour, très difficile au 95e, impossible à déceler après 123 jours. Le *Bacille du tétanos* avait encore toute sa virulence après 234 jours; il avait tout à fait disparu après 361 jours. Le *Bacille pyocyanique* a complètement disparu après 33 jours; le *Pneumobacille de Friedlaender* après 28 jours. Le *Bacille du charbon* a gardé sa virulence pendant toute une année. Le *Bacille du rouget du porc*, le *Bacille de la septicémie de la souris* ont gardé leur virulence jusqu'au 234e jour de l'enfouissement. Le *Bacille typhique* n'a été retrouvé qu'une fois au 96e jour de l'enfouissement, sur une série de cadavres infectés. Les couches de terre sous-jacentes se sont toujours montrées dépourvues de germes pathogènes qui avaient été employés, sauf dans les cas où l'eau envahit les fosses et se charge alors de germes; si la terre entourant la fosse a un bon pouvoir filtrant, même sous une assez faible épaisseur, il n'y a à craindre aucune dissémination.

Les recherches de Klein (1) conduisent à des données similaires. Dans ses expériences avec des cadavres de cobayes infectés, il a obtenu les résultats suivants : le *Bacillus prodigiosus* avait disparu au bout de 28 jours; le *Staphylocoque doré*, au bout de 2 mois; le *Vibrion cholérique*, au bout de 28 jours; le *Bacille typhique*, au bout de 21 jours; le *Bacille de la diphtérie*, au bout de 21 jours; le *Bacille de la peste*, au bout de 21 jours; le *Bacille de la tuberculose*, au bout de 7 semaines.

D'après Gaertner (2), dans le fumier de ferme et dans les matières fécales, les Bactéries du *choléra* et de la *fièvre typhoïde* peuvent rester vivantes un peu plus d'une semaine; le *Bacille du rouget*, pendant 15 jours; le *Bacille de la tuberculose* et la *Bactérie ovoïde des septicémies hémorragiques*, pendant plusieurs mois. La haute température, 70° environ, déterminée par la fermentation du fumier, accélère beaucoup la destruction de ces microbes. Par contre, les Bactéries à spores très résistantes, le *Bacille du tétanos*, le *Vibrion septique*, le *Bacille du charbon*, supportent un très long séjour dans le fumier.

On voit qu'il est difficile d'énoncer une règle quelque peu générale; ce sont les conditions d'espèce microbienne et de milieu qui semblent être les dominantes.

Pratiquement, il faut avouer qu'il paraît bien difficile de pouvoir agir efficacement dans le sol sur des produits virulents que l'on voudrait détruire. Pour beaucoup, heureusement, la viabilité y est courte.

CHAPITRE QUATRIÈME

LES BACTÉRIES DU CORPS

1° Les Bactéries dans l'organisme normal.

L'intérieur même de l'organisme, à l'état normal, paraît être un milieu absolument fermé pour les germes de nature diverse. C'est ce qui ressort de très anciennes expériences de Pasteur, qui démontrent que

(1) Klein, Zur Kenntniss des Schicksals pathogener Bakterien in der beerdigten Leiche (*Centralbl. für Bakt.*, XXV, 1899, p. 737).

(2) Gaertner, Ueber das Absterben von Krankheitserregern im Mist und Compost (*Zeitschr. für Hygiene*, XXVIII, 1898, p. 1).

divers liquides de l'économie, recueillis avec toutes les précautions nécessaires pour ne pas y introduire de Bactéries pendant les manipulations ou avec les appareils employés, donnent des milieux de culture tout à fait purs. Dans ces conditions, le sang ne se putréfie jamais, même placé longtemps à l'étuve; son odeur reste celle du sang frais, ses qualités subsistent identiques; il s'oxyde simplement un peu, lorsque le vase de conserve renferme de l'air. Il en est de même du lait, de l'urine, qui ne subissent que des changements tout à fait secondaires, dus à de légères modifications chimiques de quelques-uns de leurs principes constituants.

Duclaux (1) conclut de même de nombreux ensemencements de fragments de tissus dans des liquides nutritifs très divers. En se servant de portions de glandes annexes du tube digestif, glandes salivaires, pancréas, foie, pris suffisamment loin de l'entrée dans la glande du canal excréteur, il n'a obtenu qu'en faibles proportions un développement dans ses cultures, ce qui doit en toute certitude, selon lui, être mis sur le compte des contaminations par l'air, impossibles à être évitées complètement dans de telles expériences. Les premières portions du canal excréteur glandulaire et les tissus immédiatement environnants donnaient au contraire des résultats positifs; ces canaux sont en effet en contact direct avec l'intestin qui, communiquant avec l'extérieur, renferme de nombreuses Bactéries.

Les recherches de Hauser (2) l'ont conduit à des conclusions identiques. Dans les tissus vivants et dans le suc exprimé de ces tissus, chez les animaux sains, on ne trouve aucune espèce de Bactéries, en particulier aucune Bactérie de putréfaction. Le tissu vivant, séparé de l'organisme et conservé à l'abri de toute Bactérie, dans l'air, l'oxygène l'acide carbonique, dans l'eau ou tout autre milieu nutritif, ne se putréfie pas, mais subit une métamorphose régressive, une sorte de nécrose, analogue à celle des tissus qui sont privés de nutrition dans l'organisme même, à l'abri des Bactéries. Enfin, fait important, les produits qui proviennent de ces modifications n'ont aucune action pathogène.

Toutefois, il n'en est plus de même pour les parties du corps en communication immédiate avec l'extérieur. Là, les Bactéries se rencontrent le plus souvent et en grand nombre, apportées par l'air ou les ingesta, ou progressant lentement depuis les orifices libres jusqu'en des points plus profonds. La pénétration de ces organismes dans l'épaisseur même des organes et de là dans le sang trouve heureusement une barrière puissante dans l'intégrité des couches épithéliales qui revêtent ces parties. Mais l'obstruction ne semble pas absolue, car dans certains cas il paraît prouvé que l'infection peut se faire directement, par pénétration d'espèces nuisibles à travers les épithéliums, sans lésion aucune du revêtement. C'est en particulier l'opinion de Koch pour la *Bactérie du charbon*; mais là on se trouve en présence de conditions spéciales de l'épithélium intestinal, en rapport avec l'acte de la digestion. Nous avons vu que Babès assure que les *Bacilles de la morve* peuvent traverser la peau intacte pour infester l'organisme.

La présence de Bactéries dans le tube digestif de l'homme et des ani-

(1) Duclaux, Chimie biologique, p. 85.

(2) Hauser Ueber das Vorkommen von Mikroorganismen ins lebendenden Gewebe gesunder Thiere (*Arch. für exper. Path.*, XX, 1885, p. 162).

maux a même été considérée par quelques-uns comme un facteur indispensable des processus de digestion de certaines substances, la cellulose en particulier, qui est certainement en partie assimilée chez les herbivores (p. 48). Sans ces Bactéries, pensait-on, la nutrition et la vie seraient impossibles. Des expériences très intéressantes de Nuttall et Thierfelder (1) démontrent nettement que l'organisme peut fort bien se passer de ces microbes commensaux sans que la nutrition cesse de s'opérer convenablement. Ces expérimentateurs retirent de l'utérus de femelles de cobaye, les fœtus à terme, par une opération césarienne faite avec toutes les précautions aseptiques nécessaires. Leur tube digestif, c'est prouvé depuis longtemps, est absolument dépourvu de microbes. Les animaux sont placés dans un milieu tout à fait aseptique et nourris avec des aliments, lait et biscuit, sûrement stérilisés. L'expérience a pu durer une dizaine de jours ; certains cobayes avaient gagné jusqu'à 28 grammes, d'autres une quinzaine seulement. A l'autopsie, leur tube digestif était amicrobien. Les auteurs se croient tout à fait en droit de conclure que des animaux peuvent vivre et croître sans Bactéries dans leur tube digestif. Toutefois, des recherches de Schottelius (2), faites sur des poulets, montrent que la suppression de la digestion microbienne dans l'intestin est toujours défavorable au bon développement et même souvent funeste. D'après ce que l'on sait sur les Bactéries de l'intestin, il est légitime de penser que bien des actions des microbes qui s'y trouvent normalement, vont dans le sens de la digestion physiologique, l'aident bien certainement; la cellulose même paraît bien ne pouvoir être rendue assimilable que par certaines actions microbiennes, aucun ferment digestif ne semblant encore aujourd'hui l'attaquer et la modifier dans le sens voulu.

Ici, l'expression *organisme sain* n'implique pas seulement un état momentané de parfaite apparence de santé, mais doit s'entendre d'un organisme qui n'a pas été exposé à de ces affections dont les effets peuvent tarder à apparaître et ne se produire qu'en rapports tout à fait secondaires, souvent même inaperçus, avec l'infection. Les germes pathogènes, introduits dans un organisme qui ne présente pas les conditions favorables à leur développement, peuvent sommeiller, tout en conservant leur puissance virulente, pendant un temps assez long, jusqu'à ce qu'une modification, souvent insignifiante, leur permette de pulluler et d'envahir le corps. C'est la théorie du *microbisme latent* de Verneuil (3), qu'éclairent certaines propriétés biologiques des cultures d'espèces pathogènes.

L'organisme de la plante doit bien certainement se comporter envers les Bactéries comme l'organisme animal; les systèmes anatomiques parfaitement clos n'en doivent pas contenir à l'état normal. Galippe (4), dans quelques expériences, est arrivé à des conclusions opposées et a admis comme démontrée la présence des Bactéries dans l'intérieur des

(1) Nuttall et Thierfelder, Tierisches Leben ohne Bakterien im Verdaungskanal (*Zeitschr. für phys. Chemie*, XXI, 1895, et XXII, 1896).

(2) Schottelius, Die Bedeutung der Darmbakterien für die Ernährung (*Arch. für Hygiene*, XXXIV, 1899, p. 210).

(3) Verneuil, Du parasitisme microbique latent (*Bull. de l'Acad. de méd.*, 1886).

(4) Galippe, Sur la présence des microorganismes dans les tissus végétaux (*Soc. de Biol.*, 25 juin 1887).

tissus végétaux normaux. Mais il faut remarquer que cet observateur n'a tenu aucun compte de certaines conditions qui pouvaient fausser considérablement ses résultats ; ainsi il n'a pas songé aux stomates, librement ouverts à l'extérieur, faisant passer naturellement, dans les lacunes aérifères de beaucoup de tissus, l'air et les nombreuses Bactéries qu'il contient. C'est certainement pour cette raison que les tissus foliacés lui ont donné des résultats positifs parlants, 100 p. 100 avec la salade et le chou. Jusqu'à plus ample informé, on n'est pas autorisé à abandonner les idées qui ont généralement cours sur ce sujet.

Bactéries de la peau.

La peau de l'homme est habitée par de nombreuses espèces de Bactéries. Tout d'abord, on doit s'attendre à y rencontrer une bonne partie des espèces de l'air ou des poussières. Bordoni (1) signale cinq espèces de *Micrococcus*, en particulier celle qui a été regardée par Sehlen comme cause de la *pelade* (Voy. p. 407), deux Bacilles, l'un croissant en très longs filaments qui se rapproche d'un *Leptothrix epidermidis* dont parle Bizzozero et l'autre dont les cultures dégagent une odeur fétide, qu'il nomme *Bacterium graveolens*, et une Sarcine qui est probablement *Sarcina lutea.* De nombreuses Bactéries saprophytes ont aussi été rencontrées sur la peau (2). Parmi les Bactéries pathogènes, on aurait isolé des espèces de suppuration et en particulier les *Micrococcus pyogenes aureus* et *Micrococcus pyogenes albus*, prêts à pénétrer dans l'organisme à la moindre éraillure produite (3). Plusieurs maladies cutanées sont certainement occasionnées par la pullulation excessive de quelques-unes des espèces que l'on rencontre sur la peau. Ces Bactéries ne se trouvent pas seulement à la surface immédiate des couches épidermiques, mais doivent pénétrer assez profondément entre les cellules. Un simple lavage, en effet, même très soigné, un lavage au savon avec une brosse, ne suffit pas pour purifier complètement la peau ; en appliquant une partie de la main ainsi savonnée et frottée sur une plaque de gélatine, on voit très souvent des colonies se développer à la place où s'est fait le contact. Il faut recourir à des procédés plus complets et plus sûrs pour stériliser complètement la peau. Il faut brosser soigneusement la peau avec de l'eau de savon, puis la laver largement avec une solution forte de sublimé, la liqueur de Van Swieten par exemple ; la place est ensuite lavée à l'alcool d'abord, puis à l'éther qui s'évapore rapidement.

Mais cette manière de faire peut encore exposer à des mécomptes ; les Bactéries, en effet, peuvent pénétrer assez profondément pour être à l'abri de l'action du réactif. Elles peuvent en particulier envahir les glandes sudoripares ou les glandes sébacées, en passant par leurs canaux excréteurs. Les espèces pyogènes empruntent souvent bien certainement cette voie, comme le démontrent les expériences de Garré

(1) Bordoni-Uffreduzzi, Ueber die biologischen Eigenschaften der normalen Hautmicrophyten (*Fortschr. der Med.*, 1886, n° 5).

(2) Maggiora, Contributo allo studio dei microfiti della pelle umana normale e specialmente del piede (*Giornale della Società d'igiene*, 1889).

(3) Markoff, Dissertation inaugurale, Saint-Pétersbourg, 1894 (en russe). Analysé in *Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 604.

(p. 345); des espèces chromogènes, *Micrococcus hæmatodes* et *Bacillus pyocyaneus*, peuvent aussi se développer dans les glandes sudoripares et occasionner le phénomène des sueurs colorées (1).

Bactéries du tube digestif.

Le *tube digestif*, dans ses différentes portions, renferme des Bactéries très nombreuses et très variées, qui y sont introduites avec les ingesta ou proviennent de l'air, qui les dépose dans les voies antérieures d'où elles sont entraînées par la déglutition. Certaines espèces paraissent même propres à ce milieu; elles n'ont, jusqu'ici du moins, jamais été signalées à l'état libre, dans la nature.

La nature des espèces que l'on isole varie suivant la portion du tube intestinal à laquelle on s'adresse. La raison de ce fait est uniquement dans les conditions de milieu qui peuvent considérablement changer. La bouche offre un milieu favorable à la vie de ces êtres; les aliments y abondent, la réaction de la salive est alcaline; aussi en trouve-t-on de très nombreux, qui se développent surtout dans les interstices dentaires, où ils sont moins sujets aux frottements et aux diverses actions mécaniques qui peuvent les entraîner. L'estomac et son contenu très acide sont moins propices à la pullulation des Bactéries. Peu d'espèces semblent s'y plaire, dans les conditions physiologiques. Beaucoup y meurent, tuées par l'acidité du suc gastrique; d'autres passent, plus résistantes, surtout à l'état de spores ou entourées de matières alimentaires qui les préservent de l'action nocive du milieu. Il n'en est plus de même de l'intestin dont la plupart des liquides de sécrétion ont une réaction alcaline; aussi les Bactéries y pullulent, intervenant certainement pour une bonne partie dans les modifications du contenu.

Bactéries de la bouche. — L'étude des Bactéries de la *bouche* a attiré plusieurs observateurs, qui en ont fait l'objet d'études fort intéressantes, sans que la question paraisse cependant épuisée. Miller (2) en a obtenu cinq espèces qu'il désigne par les lettres grecques α, β, γ, δ, ε. Rasmussen (3) a trouvé plusieurs espèces de Moisissures et une Levure, à côté de quelques Bactéries. Le travail le plus complet est celui de Vignal (4), qui a isolé de la salive, du tartre dentaire ou de l'enduit lingual, dix-neuf espèces différentes, qu'il a pu rapporter en partie à des types connus. Le procédé employé était celui des cultures sur plaques. Une parcelle de matière à examiner était délayée avec soin dans un petit volume de bouillon stérilisé, qu'on ajoutait ensuite à la quantité habituelle de gélatine. Il a pu reconnaître ainsi plusieurs espèces saprophytes, entre autres les *Leptothrix buccalis*, *Bacillus mesentericus vulgatus*, *Bacillus termo*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus ulna, Spirillum rugula*. Accompagnant ces dernières, il a rencontré des Bactéries pathogènes, les *Micrococcus pyogenes aureus* et

(1) Zuckermann, Ueber die Ursache der Eiterung (*Centralbl. für Bakt.*, I, 1887, p. 497).

(2) Miller, Der Einfluss der Microorganismen auf die Caries der menschlichen Zähne (*Arch. für exper. Path.*, XVI, 1882). — *Id.*, Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig, Thieme, 1892.

(3) Rasmussen, Om Drykning af Mikroorganismen fra spyt af sunde Mennesker. Copenhague, 1883.

(4) Vignal, Recherches sur les microorganismes de la bouche (*Arch. de phys.*, 1886).

Micrococcus pyogenes albus, le *Micrococcus Pasteuri* dont Netter (1) a signalé aussi la présence fréquente dans la salive à l'état normal. Malheureusement, il ne donne en aucun cas de détails sur l'action virulente de ces cultures, qu'il ne paraît pas avoir recherchée; c'est une preuve qu'il est regrettable de ne pas trouver pour établir sa conviction. C'est dans la salive également que Kreibohm a rencontré le *Bacillus crassus sputigenus*, très voisin du *Micrococcus Pasteuri*, et Biondi trois espèces de *Micrococcus* (p. 421) et un *Bacillus* dont la véritable spécificité n'est pas rigoureusement établie. Des recherches postérieures de Vignal (2) montrent que beaucoup des espèces de la bouche ont une action digestive évidente sur différentes substances alimentaires; il est très probable qu'il faut leur rapporter une partie des effets déterminés par la salive sur ces mêmes substances. La pullulation excessive de certaines espèces peut amener des troubles prononcés. Miller (3) fait jouer un très grand rôle dans la carie des dents à des Bactéries qui pénètrent dans l'intérieur des canalicules dentaires. Pour Galippe (4), ces êtres occasionnent fréquemment des irritations de la muqueuse buccale, pouvant causer la chute des dents; il a décrit ces affections sous le nom de *gingivite arthro-dentaire infectieuse*. Les Bactéries filamenteuses de la bouche jouent un grand rôle dans la formation du tartre dentaire; en croissant en touffes sur les dents, elles déterminent autour d'elles, peut-être par exhalaison d'acide carbonique, la précipitation des sels de chaux de la salive; il se forme ainsi une croûte plus ou moins dure, qui peut acquérir une épaisseur assez grande.

Des recherches plus récentes, surtout celles de Podbielsky (5), de Sanarelli (6), de Freund (7), démontrent combien sont nombreuses et variées les espèces que l'on peut rencontrer dans la bouche. Presque toute la flore des saprophytes finira par y passer, sans que l'on puisse cependant jusqu'ici signaler quelque chose de bien spécial. C'est encore le fameux *Leptothrix buccalis* de Robin, encore si mal défini, qui paraît toujours le plus particulier, sans être, toutefois, exclusif à ce milieu. Nous avons vu que les *Cladothrix*, voisins comme organisation, s'y rencontrent fréquemment. Les formes courbes sont très communes et signalées depuis longtemps; le *Spirillum buccale*, le *Spirillum sputigenum* sont des hôtes habituels de la cavité buccale.

Pour les espèces pathogènes, avec les *Staphylocoques pyogènes* et le *Pneumocoque*, cités plus haut, nous avons vu combien était fréquent le *Streptocoque pyogène* (p. 361); qu'on pouvait trouver dans la bouche

(1) Netter, Du microbe de la pneumonie dans la salive (*Soc. de Biol.*, 1888). — *Id.*, Le Pneumocoque, revue critique (*Arch. de méd. expér.*, 1890).

(2) Vignal, Recherches sur l'action des microorganismes de la bouche sur quelques substances alimentaires (*Arch. de phys.*, 1887).

(3) Miller, *loc. cit.* Et : Bakteriopathologie der Zahnpulpa (*Centralbl. für Bakt.*, XVI, 1894, p. 447).

(4) Galippe, *Journ. des connaissances méd.*, 1887.

(5) Podbielsky, Dissertation inaugurale, Kazan, 1890. Analysé in *Centralbl. für Bakt.*, IX, 1891, p. 617.

(6) Sanarelli, Der menschliche Speichel und die pathogenen Mikroorganismen der Mundhöhle (*Centralbl. für Bakt.*, X, 1891, p. 817).

(7) Freund, Beitrag zur Kenntniss chromogener Spaltpilze und ihres Vorkommens in der Mundhöhle. Inaug. Dissert., Erlangen, 1893.

d'individus sains le *Bacille de la diphtérie*, dépourvu de virulence ou nettement virulent (p. 617). Le *Pneumobacille* n'y est pas rare. Enfin, Grimbert et Choquet (1) ont constaté la présence du *Colibacille*, 27 fois sur 60 sujets examinés, de préférence au niveau des amygdales. Le *Micrococcus tetragenus* a aussi été isolé plusieurs fois dans ces conditions.

Les Bactéries de la salive et des crachats, à l'état normal, ne présentent rien de spécial à signaler. On y peut rencontrer la même variété d'espèces dont il vient d'être parlé.

La flore bactérienne du mucus nasal est tout aussi variée (2). On y trouve particulièrement de nombreuses formes spirillaires. Rappelons que Straus a rencontré le *Bacille de la tuberculose* dans le mucus nasal de sujets sains (p. 532).

Bactéries de l'estomac. — On observe dans l'*estomac* bien des Bactéries de la bouche qui ont été entraînées avec les aliments ou la salive. A l'état normal, ces êtres n'y pullulent guère à cause de l'acidité du suc gastrique, sous l'influence duquel beaucoup succombent. Dans certains états pathologiques, les conditions changent ; la réaction du suc gastrique devient souvent presque neutre, il peut se produire des stagnations qui favorisent le développement de Bactéries et la fermentation du contenu qui en est la conséquence. Les Bactéries sont alors abondantes ; c'est ainsi que la *Sarcine de l'estomac* se rencontre parfois en quantité considérable. En raison des mauvaises conditions qui leur sont offertes et du court séjour qu'elles font dans l'estomac, à l'état normal, ces espèces ne paraissent pas avoir une grande influence sur le contenu stomacal.

Abelous (3) a rencontré, dans son estomac, seize espèces bactériennes différentes, parmi lesquelles des *ferments butyriques*, le *Bacille pyocyanique* que d'autres observateurs ne signalent pas. Des *Sarcines* sont presque toujours présentes ; Oppler (4) en décrit cinq espèces, dont la *Sarcina ventriculi*.

La nature des espèces qui peuvent se trouver dans l'estomac doit beaucoup dépendre du régime alimentaire.

Une partie de ces microbes introduits disparaissent au contact du suc gastrique acide, dont l'action bactéricide est réelle. Cependant, des espèces relativement résistantes même peuvent ne pas être détruites, comme Metschnikoff et Sanarelli l'ont démontré pour des *Vibrions cholérigènes*, et ceci surtout dès que l'acidité du suc gastrique est diminuée. Abelous a, du reste, constaté que tous les microbes qu'il avait isolés supportaient très bien le contact, même prolongé, d'une solution d'acide chlorhydrique à 1,7 p. 1 000, représentant le titre normal du suc gastrique.

Gilbert et Dominici (5), chez le chien, trouvent l'estomac très riche en microbes; trois heures après l'ingestion des aliments, alors que

(1) Grimbert et Choquet, Sur la présence du Colibacille dans la bouche de l'homme sain (*Soc. de thér.*, 23 octobre 1895).

(2) Fermi et Bretschneider, L'Etiologia e la Profilassi della Corizza (*Centralbl. für Bakt.*, XX, 1896, p. 4).

(3) Abelous, Les Microbes de l'estomac. Thèse de Montpellier, 1888.

(4) Oppler, *Arch. für exper. Path.*, XX, 1886, p. 243.

(5) Gilbert et Dominici, Recherches sur le nombre des microbes du tube digestif (*Soc. de Biol.*, 10 février 1894).

l'action microbicide du suc gastrique aurait dû s'exercer, le contenu peut renfermer environ 50 000 Bactéries par milligramme.

Bizzozero (1) signale, comme normale chez le chien, la présence, à la surface de l'estomac et dans les glandes stomacales, voire même dans l'intérieur de leurs cellules épithéliales, de longs Spirilles de 3 à 8 μ de long, se colorant très bien aux couleurs d'aniline et se décolorant par la méthode de Gram.

Bactéries de l'intestin. — Les Bactéries trouvent dans l'intestin des conditions meilleures que celles que présente l'estomac ; aussi s'y rencontrent-elles en plus grand nombre; elles ont été surtout étudiées dans les matières fécales. Bienstock (2) en a isolé cinq espèces de Bacilles dont deux sont surtout intéressantes, le *Bacillus Bienstockii*, déterminant chez les souris une sorte de septicémie, et le *Bacillus albuminis*, un des agents les plus énergiques de la décomposition des matières albuminoïdes. C'est aussi des selles que Brieger a obtenu le *Bacillus cavicida* qui donne de l'acide propionique aux dépens des sucres. Escherisch (3) a étudié spécialement à ce point de vue les matières fécales des nouveau-nés et des nourrissons; il en a isolé surtout deux espèces intéressantes, qui ont été retrouvées depuis dans le contenu intestinal de l'homme, le *Bacillus coli communis* et le *Bacillus lactis aerogenes*, tous deux pathogènes pour les animaux d'expérience. Gesner (4) retrouve à peu près les mêmes espèces. Vignal (5) a isolé dix espèces, dont deux seulement se rapportent à des types sûrement déterminés, le *Bacillus coli communis* et le *Bacillus mesentericus vulgatus*; il n'a recherché l'action physiologique d'aucune des Bactéries, mais s'est occupé exclusivement de leur action sur les matières alimentaires. Les recherches ultérieures ont montré l'excessive variété des espèces du contenu intestinal et ont surtout confirmé l'importance considérable qui doit être attribuée à certaines espèces, tout particulièrement le *Colibacille* et ses similaires; leur histoire domine certainement la pathologie intestinale.

Parmi tous ces microbes, les uns sont purement fortuits, apportés là par le hasard des conditions de l'alimentation ; les autres sont plus spéciaux, parce qu'ils rencontrent dans l'intestin un bon milieu pour végéter, ou qu'ils exercent sur le contenu des actions réellement particulières, parfois même utiles (6).

Il paraît, en effet, raisonnable de reconnaître que le rôle que jouent ces organismes dans les modifications qui font des aliments les matières fécales doit être considérable. Les diastases, souvent puissantes, qu'ils sécrètent, ajoutent leur action à celle des ferments digestifs. Bien que nous ayons vu précédemment (p. 1142) que la nutrition de l'animal pouvait très bien se faire sans la présence de microbes dans son tube

(1) Bizzozero, Sulla presenza di Batteri nelle ghiandole rettali e nelle ghiandole gastriche del cane (*Atti della reale Academia delle Scienze di Torino*, XXVIII, 1893).

(2) Bienstock, Ueber die Bacterien der Fæces (*Zeitschr. für klin. Med.*, VIII, 1re p.).

(3) Escherisch, Die Darmbacterien des Neugeborenen und Säuglings (*Fortschr. der Med.*, 1885).

(4) Gesner, Ueber die Bacterien im Duodenum des Menschen (*Arch. für Hygiene*, IX, 1889).

(5) Vignal, Recherches sur les microorganismes des matières fécales (*Arch. de phys.*, 1887).

(6) Séverin, Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung derselben (*Centralbl. für Bakt.*, 2te Abth., I, p. 97, 160 et 799).

digestif, il existe, comme l'annonçait Duclaux (1) il y a quelques années, une véritable *digestion bactérienne*, qui agit dans le même sens que la digestion physiologique. Ce serait même à cette digestion opérée par les Bactéries commensales de l'intestin qu'il faudrait rapporter la digestion de certaines substances, la cellulose en particulier sous sa forme la plus assimilable, qu'aucun des ferments solubles sécrétés par l'organisme ne peut parvenir à transformer.

Lorsqu'il y a pullulation excessive de ces Bactéries, à la suite de modifications dans l'état de l'intestin, il peut se produire un état de souffrance de l'organe, provoqué peut-être par la présence de produits solubles nuisibles. Il en est de même lorsqu'on met à leur disposition certaines substances de préférence à d'autres. Ainsi Miller (2) a observé que ces Bactéries de l'intestin, prises en masse, développent une forte quantité de gaz au contact des hydrates de carbone ; il ne s'en produit presque pas au contraire avec la viande, le poisson, les œufs, le fromage, la laitue, les épinards. On peut tirer de là des données pratiques très précieuses, applicables assurément à certains cas de dyspepsie flatulente, qui sont sous la dépendance immédiate d'une pullulation excessive des Bactéries dans le tube intestinal.

L'intestin renferme certainement des espèces anaérobies qui y trouvent de bonnes conditions de vie. Le *Vibrion septique*, en particulier, doit s'y trouver constamment ; c'est en effet une Bactérie des plus communes dans les cadavres, alors même que la putréfaction n'est pas encore avancée ; il est probable qu'il peut pénétrer dans le corps aussitôt après la mort et l'envahir rapidement, n'étant plus arrêté par les cellules vivantes de l'épithélium intestinal. Le *Bacille du tétanos* y est commun, surtout dans les excréments d'herbivores. Les *Ferments butyriques* sont aussi des commensaux normaux. Il semble que l'on puisse admettre que l'intestin des animaux est le milieu végétatif normal de bien des anaérobies, qui ne se trouvent guère dans le milieu extérieur qu'à l'état de vie latente, sous forme de spores, parce que les conditions de végétabilité qui leur sont nécessaires se produisent plus difficilement.

Quant au nombre des microbes que peut renfermer le contenu intestinal, il paraît varier considérablement sous bien des influences, suivant la nature et le régime de l'animal d'abord, ensuite, chez un même animal, suivant la région considérée. L'intestin des herbivores en contiendrait probablement moins que celui des carnivores. D'après de Giaxa (3), l'intestin grêle des cobayes contient environ de 1 000 à 1 300 microbes par décigramme de matière, et le gros intestin de 2 000 à 5 000. Chez le chien, d'après les recherches de Gilbert et Dominici (4), le duodénum est la partie la moins riche en germes ; leurs expériences en ont décelé environ 30 000 par milligramme, alors qu'il en existait 50 000 dans l'estomac. Le jéjunum leur en a montré de 60 000 à 70 000 ; l'iléon de 80 000 à 100 000, c'est la partie de l'intestin qui en contient le plus ; dans le

(1) Duclaux, Ferments et maladies, 1882. Et : La digestion sans microbes (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, X, 1896, p. 411).

(2) Miller, Ueber einige gasbillende Spaltpilze des Verdauungstractus (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1886, n° 5).

(3) De Giaxa, Del quantitativo di batteri nel contenuto del tubo gastro-enterico (*Giornale internazionale delle Scienze mediche*, X, 1888).

(4) Gilbert et Dominici, *loc. cit.* 1146.

gros intestin, le chiffre tombe brusquement entre 20 000 et 30 000. Les mêmes expérimentateurs ne constatent chez le lapin que le nombre, très peu élevé, de 35 à 48 germes par milligramme dans les matières fécales du lapin : chez l'homme, au contraire, le chiffre est entre 67 000 et 80 000 par milligramme dans les matières fécales émises ; dans les mêmes conditions, chez le chien, il est de 20 000 à 25 000.

De l'intestin, les microbes peuvent remonter dans les canaux glandulaires qui y débouchent ; on en trouve souvent en effet sur une certaine longueur dans le canal cholédoque et le canal pancréatique. A l'état normal, la bile paraît être stérile (1) ; elle s'infecte cependant facilement, et c'est alors surtout le *Colibacille* qui est en jeu.

Certains observateurs admettent que, pendant la vie, chez l'animal sain, la paroi intestinale se laisse facilement traverser par les Bactéries. Pour Nocard même, au moment de la digestion, de nombreuses Bactéries sont amenées dans le canal thoracique par les vaisseaux chylifères. Neisser (2), en mêlant à la nourriture d'animaux diverses Bactéries pathogènes ou des Bactéries de putréfactions, n'a jamais pu en rencontrer dans les chylifères, les ganglions mésentériques ou la veine porte de ces animaux, même en provoquant l'irritation de l'intestin par l'absorption de poussières dures, de verre pilé ou d'huile de croton. Cette propriété de traverser les parois intestinales pendant la vie paraît être spéciale à quelques espèces pour lesquelles elle est incontestable ; cependant, généralement, la muqueuse intestinale d'un animal sain, examinée aussitôt après la mort, ne renferme pas de microbes ; leur présence est un signe de trouble dans son fonctionnement (3).

Il n'en est plus de même lorsque l'intestin présente des lésions importantes ; les microbes qu'il contient peuvent alors envahir rapidement l'organisme. Il en est de même aussitôt après la mort et souvent même dans les quelques heures qui la précèdent ; l'arrêt des manifestations de l'activité cellulaire ou la mort des cellules de revêtement qui peut précéder la mort définitive de l'organisme, permet aux microbes de l'intestin de franchir la barrière qui leur était opposée ; certains le font très rapidement, le *Colibacille* surtout, qui se retrouve quelquefois dans la rate pendant l'agonie, souvent de quelques heures à vingt-quatre heures après la mort (4).

Bactéries des voies respiratoires.

Les expériences de Straus et Dubreuilh (5) ont nettement démontré que l'air expiré est complètement privé de germes ; ceux qu'il tenait en sus-

(1) Gilbert et Girode, Contribution à l'étude bactériologique des voies biliaires (*Sem. méd.*, 1890, n° 58). — Gilbert et Fournier, Du rôle des microbes dans la genèse des calculs biliaires (*Ibid.*, 1896). — Gilbert, *Arch. gén. de méd.*, 1898, p. 257. — Mignot, *Ibid.*, p. 129 et 263. — Fraenkel et Krause, Bakteriologische und experimentelle über die Galle (*Zeitschr. für Hygiene*, XXXII, 1899, p. 97).

(2) Neisser, Ueber die Durchgängigkeit der Darmwand für Bakterien (*Zeitschr. für Hygiene*, XXII, 1896, p. 12).

(3) Marfan et Bernard, Bactériologie de l'intestin. Absence de microbes dans la muqueuse intestinale normale des animaux ; caractère pathologique de leur présence (*Presse méd.*, 10 mai 1899).

(4) Achard et Phulpin, Envahissement des organes pendant l'agonie et après la mort (*Arch. de méd. expér.*, janvier 1895).

(5) Straus et Dubreuilh, Sur l'absence de microbes dans l'air expiré (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 5 décembre 1887).

pens avant l'inspiration sont donc restés dans les voies aériennes. L'air, en parcourant dans les poumons tout ce système de canaux étroits, à parois humides, revêtues d'une couche de mucus visqueux, se dépouille de tous ses corpuscules en suspension, en particulier des Bactéries; la proportion qui en sort est très minime par rapport à celle qui y entre, 1 pour 609 d'après Straus (1). Ces germes restent fixés aux parois des conduits bronchiques pendant un certain temps, puis disparaissent, détruits par l'activité même des cellules épithéliales ou entraînés par l'expectoration. C'est de cette façon que des espèces pathogènes, le *Pneumocoque* entre autres, peuvent arriver dans le poumon, et y déterminer leur processus morbide, et ceci d'autant plus facilement que nous savons qu'elles existent normalement dans la bouche. Toutefois, pour que l'action pathogène soit produite, il faut, sans doute, des conditions particulières dans la disposition de l'organisme, un amoindrissement de ses moyens de résistance et même un état spécial de la matière virulente : des expériences de Cadéac et Malet (2) montrent en effet que l'inhalation de poussières sèches renfermant des *Bacilles tuberculeux* ne donne que rarement la tuberculose, tandis que l'introduction dans l'appareil respiratoire de ces mêmes Bactéries mélangées à des liquides cause constamment une tuberculose pulmonaire.

Des recherches nombreuses, en particulier celles de Barthel (3), de Muller (4), de Goebel (5), de Béco (6), concluent à l'absence de microbes dans le tissu pulmonaire de l'animal sain; les germes ne commencent à se rencontrer que dans des bronches d'un certain diamètre.

Les espèces que l'on peut rencontrer dans les voies respiratoires sont presque tout aussi nombreuses et variées que celles qui se trouvent dans la bouche. C'est du reste la conséquence de leur apport qui se fait par l'introduction de l'air chargé de poussières les plus diverses. Les mêmes espèces pathogènes peuvent s'y rencontrer; le *Pneumocoque* est surtout à signaler.

Bactéries des voies génito-urinaires.

Les voies génito-urinaires, qui sont en communication directe avec l'extérieur, renferment aussi des Bactéries à l'état normal. Ces espèces commensales paraissent tout à fait inoffensives ; il se pourrait, cependant, qu'à la suite de modifications pathologiques des organes et de changements consécutifs de la quantité des sécrétions, une espèce pullulât au point de devenir nuisible. C'est ainsi que, dans la vessie, le *Micrococcus ureæ* n'occasionnerait la fermentation ammoniacale de l'urine que lorsqu'il se trouve dans ce liquide de fortes proportions de mucus, sécrétées par la muqueuse enflammée; à l'état normal, cette Bactérie n'arriverait pas à s'y développer. Il est de ses espèces qui se

(1) Straus, Sur l'absence de microbes dans l'air expiré (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888, n° 4, p. 181).

(2) Cadéac et Malet, *C. R. de l'Acad. des sc.*, 12 décembre 1887.

(3) Barthel, Bakteriengehalt der Luftwege (*Centralbl. für Bakt.*, XXIV, 1898, p. 401).

(4) Muller, Der Keinsgehalt der Luftwege bei gesunden Thieren (*Münch. med. Wochenschr.*, 1897, n° 49).

(5) Goebel, Thèse de Marbourg, 1897.

(6) Béco, Recherches sur la flore bactérienne du poumon de l'homme et des animaux (*Arch. de méd. expér.*, 1899).

retrouvent, souvent en abondance, dans les diverses manifestations pathologiques de ces organes, accompagnant les microbes pathogènes qui les déterminent; il en sera parlé plus loin.

Organes génitaux de l'homme. — Chez l'homme, le *canal de l'urètre* est la seule partie où l'on trouve des microbes à l'état normal. C'est surtout la partie antérieure qui en est pourvue; la partie postérieure en contient aussi, mais ils y sont plus rares. Chez la femme, l'urètre, très court, montre souvent beaucoup de microbes dans toute son étendue. Lustgarten et Mannaberg (1) ont étudié les Bactéries de l'urètre normal, obtenues soit du canal urétral lui-même, soit de l'urine dès son émission; outre le *Staphylocoque doré* et le *Micrococcus subflavus*, ils décrivent, malheureusement d'une façon insuffisante, dix autres espèces de Bactéries, quatre Bacilles et six Microcoques. Legrain (2) a donné de plus amples détails sur plusieurs de ces espèces.

Organes génitaux de la femme (3). — Les parties génitales externes, surtout les plis de la vulve, fournissent un grand nombre de Bactéries qui y vivent en saprophytes; on doit y rencontrer probablement les mêmes espèces que sur la peau environnante (4).

Vagin. — A l'état normal, le vagin paraît peu riche en Bactéries; c'est ce que démontrent bien les recherches de Krönig (5) et de Döderlein (6) surtout. D'après le premier même, le vagin d'une femme saine, même enceinte, sur laquelle on n'a pas pratiqué le toucher, est régulièrement stérile. Le résultat serait dû à la sécrétion acide, possédant une action bactéricide bien marquée. Döderlein admet même que cette acidité est due à un Bacille spécial qu'il a cultivé sur les milieux sucrés. Bumm (7), Winter (8), Stroganoff (9), Kottmann (10) ont cependant rencontré sur la muqueuse vaginale saine un assez grand nombre d'espèces microbiennes. Ce sont surtout les *Micrococcus lacteus faviformis*, *Micrococcus albicans amplus*, *Micrococcus pyogenes aureus*, *Micrococcus pyogenes albus*, *Micrococcus pyogenes citreus*, *Micrococcus pyogenes*, *Bacillus coli communis*; Legrain (11) a signalé un Streptocoque pathogène qui paraît spécial.

Col utérin. — D'après Stroganoff, le mucus du col normal ne ren-

(1) Lustgarten et Mannaberg, *Vierteljahrsschrift für Derm. und Syphil.*, 1887.

(2) Legrain, Les microbes des écoulements de l'urètre. Thèse de Nancy, 1888.

(3) Chatinière, Contribution à l'étude des microorganismes du canal génital de la femme. Thèse de Paris, 1895.

(4) Hallé, Bactériologie du canal génital de la femme. Paris, 1898.

(5) Kronig, Scheidensekretuntersuchungen bei 100 Schwanzeren (*Centralbl. für Gynæk.*, 1894, p. 3). — Menge et Kronig, Bakteriologie der weiblichen Genitalkanals, Leipzig, Georgi, 1897.

(6) Doderlein, Ueber das Verhalten pathogener Keime zur Scheide (*Deutsche med. Wochenschr.*, 7 mars 1895).

(7) Bumm, Beiträg zur Kenntniss der Gonorrhoe des weiblichen Genitalien (*Arch. für Gynæk.*, XXIII, 1884, p. 327).

(8) Winter, Die Mikroorganismen in Genitalkanal des Gesunden Frau (*Zeitschr. für Geburstlh.*, XIV, 1888, p. 443).

(9) Stroganoff, Zur Bakteriologie des weiblichen Genitalkanals (*Centralbl. für Gynæk.*, 21 septembre 1895).

(10) Kottmann, Bakteriologie der Vagina (*Arch. für Gynæk.*, LV). — Lang, *Allgem. med. Centralzeit.*, 1896, p. 68.

(11) Legrain, Sur les caractères d'un Streptocoque pathogène existant dans le mucus vaginal (*Soc. de Biol.*, 1887, n° 27, p. 640).

ferme que tout à fait exceptionnellement de rares microbes. Winter, au contraire, dit qu'il en contient fréquemment, surtout chez la femme enceinte ; leur limite serait l'orifice interne du col.

Utérus et trompes. — Les recherches de Winter et de Peraire démontrent que la cavité de l'utérus et les trompes ne renferment jamais de microbes à l'état normal. Straus et Toledo (1) ont conclu de recherches suivies que, chez les animaux, après la parturition physiologique, la paroi utérine et la sécrétion qui y est contenue ne renferment pas de Bactéries. D'après les recherches de Döderlein (2), d'Artemieff (3), les lochies normales de la femme ne doivent jamais contenir de microorganismes.

2° Les Bactéries de l'organisme malade.

Sommaire de bactériologie clinique.

Il est un certain nombre de maladies infectieuses dont l'agent pathogène est encore inconnu ou problématique. D'autres relèvent d'espèces microbiennes bien déterminées qu'il est plus ou moins facile de reconnaître suivant le cas. Certains symptômes, certaines manifestations, présentés par l'organisme en puissance d'infection, peuvent s'observer dans des affections occasionnées par des espèces bien différentes ; il est de ces microbes qui peuvent déterminer des modifications pathologiques les plus variées, suivant l'état de leur activité, leur porte d'entrée dans l'organisme, la résistance et les conditions individuelles de ce dernier, la présence d'autres microbes favorisants ou empêchants ; ce sont de véritables agents à tout faire, comme nous en avons eu un bon exemple dans le Colibacille (p. 761). Il est bon que le médecin, en présence d'une manifestation clinique, surtout lorsque le diagnostic de la maladie elle-même n'est pas encore bien établi, sache à quels microbes il peut avoir affaire, dans la plupart des cas au moins, pour être un peu guidé dans les recherches à faire et surtout les méthodes à employer. Enfin, dans le cours d'une infection bien déterminée, il peut se trouver en présence de manifestations secondaires dues à une infection intercurrente dont il a souvent intérêt à connaître la nature pour établir le pronostic et le traitement. C'est pour lui faciliter cette tâche qu'a été institué ce chapitre, qui n'est en somme qu'une table des matières raisonnée, limitée aux seules applications cliniques les plus courantes. Les détails particuliers se trouveront à la description des espèces.

I. — EXAMENS GÉNÉRAUX.

1° Examen du sang.

Le sang peut être recueilli par simple piqûre à la peau, au doigt ou au lobule de l'oreille, avec les précautions indiquées page 248 ; ou par

(1) Straus et Toledo, Recherches bactériologiques sur l'utérus après la parturition physiologique (*C. R. de l'Acad. des sc.*, 16 avril 1888).

(2) Doderlein, *Arch. für Gynæk.*, XXXI, 1887, p. 142.

(3) Artemieff, Ueber die mikroskopische und bakteriologische Untersuchung der Lochien (*Zeitschr. für Geburtsh.*, XVII, 1890).

ponction profonde (p. 250). On en recueille aisément à l'aide de ventouses scarifiées. Il est souvent avantageux de le puiser directement dans une veine à l'aide d'une seringue stérilisée. On choisit une veine bien apparente, au coude ou à l'avant-bras ; on la fait saillir à l'aide d'une légère compression appliquée plus haut. La ponction de la veine se fait facilement, après désinfection de la peau. La seringue, munie de préférence d'une aiguille en platine iridié, doit être stérilisée d'une façon sûre, à l'autoclave à 115°, dans un tube bouché d'ouate. La peau de la région doit être désinfectée par application, pendant douze ou vingt-quatre heures, d'un pansement au sublimé. Il est à recommander de faire cesser la compression avant de retirer l'aiguille, pour éviter l'hémorragie interstitielle qui pourrait se produire.

Le sang obtenu sert à faire des préparations microscopiques que l'on colore comme il a été dit page 313 et à ensemencer des milieux de culture ; il est à recommander d'ensemencer une forte quantité de sang pour chaque culture, de 10 à 20 gouttes au moins, jusqu'à 3 ou 4 centimètres cubes, le sang de la circulation générale ne contenant souvent que peu de microbes.

Liste des espèces trouvées dans le sang.

Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque pyogène.
Pneumocoque.
Gonocoque.
Bacillus enteritidis.
Proteus vulgaris.
Bacille de la lèpre.
— de la peste.
— du rhumatisme.
Bacillus botulinus.
Tétragène.
Bacille typhique.
Colibacille.
Pneumobacille de Friedlaender.
Bacille de l'influenza.
— de la tuberculose.
— du charbon.
— de la morve (1).
— pyocyanique.
Spirille d'Obermeier.
Hématozoaire de Laveran.
Vibrion septique.
Bacille de la diphtérie.

2° Examen du pus.

Le pus est recueilli comme il a été indiqué page 248. On en fait des préparations et des ensemencements d'après les méthodes habituelles.

Liste des espèces trouvées dans le pus.

Staphylocoque doré.
— blanc.

(1) Douteux dans le sang ; Nocard dit qu'on ne l'y trouve jamais.

Micrococcus pyogenes citreus.
— *cereus albus.*
— — *flavus.*
Streptocoque pyogène.
Micrococcus du clou de Biskra.
Tétragène.
Pneumocoque.
Micrococcus intra-cellularis meningitidis.
Gonocoque et espèces similaires (Voy. le tableau, p. 399).
Bacille de la tuberculose.
— de la lèpre.
— de l'influenza.
— diphtérique.
— fusiforme de Vincent.
— de la morve.
— typhique.
Colibacille.
Bacille de Friedlaender.
Bacillus lactis aerogenes.
Bacille du chancre mou.
— pyocyanique.
Bacillus pyogenes fœtidus.
Bacilles rouges.
Vibrion septique.
Bacille du tétanos.
Bacillus pseudopneumonicus.
Proteus vulgaris.
Actinomyces.
Cladothrix Maduræ.
— *asteroides* et espèces similaires (1).
Aspergillus et autres Mucédinées pyogènes [Grasset (2), Auché et Le Dantec (3)].
Muguet (Ostrowsky) (4).
Amibes (abcès du foie) (5).
Blastomycètes.

3° Examen du lait.

Le lait peut être recueilli aseptiquement chez l'animal comme il a été dit page 183. Chez la femme, il faut se contenter de faire des lavages antiseptiques, puis à l'eau stérilisée, et faire sourdre le produit par la pression du sein.

Liste des espèces pathogènes trouvées dans le lait.

Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque pyogène.
Pneumocoque (Bozzalo).
Gonocoque.
Bacille de la tuberculose.
— du charbon.

(1) Ferré et Faguet, Abcès du cerveau à Streptothrix (Association française, Congrès de Bordeaux, 1895).

(2) Grasset, Étude d'un champignon pyogène parasite de l'homme (*Arch. de méd. expér.*, 1893, p. 664).

(3) Auché et Le Dantec, *Arch. de méd. expér.*, novembre 1894.

(4) Ostrowsky, Recherches expérimentales sur l'infection générale produite par le champignon du muguet. Thèse de Paris, 1896.

(5) Kartulis, *Virchow's Arch.*, CXVIII, 1889. — Kruse et Pasquale, Untersuchungen über Dysenterie und Leberabcesse (*Zeitschr. für Hygiene*, XII, 1894).

Bacillus lactis aerogenes.
Colibacille.
Bacille de la diphtérie (Klein).
Microcoque de la mammite contagieuse de la vache.
— — gangreneuse de la brebis.
Muguet.

4° Examen des crachats.

On doit recueillir de préférence les crachats du matin, en quantité assez grande si possible, de 10 à 50 centimètres cubes, certaines méthodes de recherche, l'homogénéisation et la centrifugation demandant, pour bien se faire, l'emploi d'une bonne proportion de produits. Les méthodes d'étude ont été exposées à propos de la recherche du *Bacille de la tuberculose*, qu'on a à y rechercher le plus souvent (p. 541).

Liste des principales espèces trouvées dans les crachats.

Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque pyogène.
Tétragène.
Sarcines diverses.
Pneumocoque.
Gonocoque.
Pneumobacille de Friedlaender.
Colibacille.
Bacille de la tuberculose.
— de la peste.
— de la lèpre.
— du smegma.
— de la morve (mucus buccal des animaux morveux).
— de l'influenza.
— de la diphtérie.
— pseudo-diphtérique.
Bacillus crassus sputigenus.
Bacille pyocyanique.
Bacilles verts des crachats.
Proteus vulgaris.
Leptothrix buccalis.
Cladothrix divers.
Actinomyces.
Aspergillus fumigatus.
Muguet.
Mucor divers.
Stérigmatocystis divers.
Blastomycètes divers.
Oïdium divers.

5° Examen des mucus divers.

Ces produits, destinés à l'examen bactériologique, peuvent être recueillis à l'aide de fils de platine ou de baguettes de verre stérilisées, ou avec de petits tampons d'ouate supportés par un fil de fer assez résistant, stérilisés à l'étuve à air à 180° dans un tube à essai.

Les espèces pathogènes trouvées dans le *mucus buccal* sont celles qui ont été signalées pour les crachats. Il en est de même, très probablement, pour le *mucus nasal* où l'on peut rencontrer en outre le *Bacille du*

rhinosclérome et le *Bacille de l'ozène*. Dans le *mucus oculaire*, dans le *mucus des organes génitaux*, on a signalé toute une série d'espèces dont la liste sera donnée plus loin.

6° Examen des urines.

L'urine recueillie par la miction, même celle obtenue par l'emploi de sondes stérilisées, peut contenir des microbes provenant du canal de l'urètre. Il est à recommander de faire auparavant un lavage du canal à l'eau bouillie. Avec la sonde, toutefois, en prenant toutes les précautions nécessaires, on est moins exposé à ces contaminations. La ponction de la vessie, faite avec un trocart stérilisé, après antisepsie de la peau à l'endroit où l'on fait la ponction, donne une certitude beaucoup plus grande. L'examen doit surtout porter sur le dépôt qu'on obtient en laissant l'urine se sédimenter, à 0° au besoin, ou en usant d'un appareil centrifugeur. On en fera des préparations microscopiques, des cultures et surtout l'inoculation intrapéritonéale au cobaye, surtout pour la recherche du *Bacille de la tuberculose*.

Liste des espèces pathogènes trouvées dans l'urine.

Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque pyogène.
Gonocoques et autres Bactéries de l'urètre.
Pneumocoque.
Bacille de la tuberculose.
— de l'influenza.
— pyocyanique.
— du smegma.
— de la lèpre (Babès).
— de la diphtérie (Budjwid) (1).
— de la morve (Philippowicz) (2).
— typhique.
Colibacille.
Bacillus lactis aerogenes.
Pneumobacille de Friedlaender.
Micrococcus ochroleucus.
Bactérie septique de la vessie de Clado.
— pyogène de la vessie d'Albarran et Hallé.
Bacilles de Doyen.
Bacille des urines d'éclamptiques de Blanc.
Urobacillus liquefaciens septicus de Krogius.
Proteus mirabilis.
Proteus Zenkeri.
Aspergillus fumigatus.
Proteus vulgaris.
Diplobacille de Teissier (p. 843).
Levures et Blastomycètes divers.
Muguet (Schmorl) (3).
Amibes (Posner) (4).
Sarcines.

(1) Budjwid, Diphteriebacillen in einem Harnsedimente (*Centralbl. für Bakt.*, XXI, 1897, p. 394).

(2) Philippowicz, Ueber das Auftreten pathogener Mikroorganismen im Harne (*Wiener med. Blätter*, 1885).

(3) Schmorl, Ein Fall von Soormetastase im der Niere (*Centralbl. für Bakt.*, VII, 1890, p. 329).

(4) Posner, Ueber Amoeben im Harn (*Berlin. klin. Wochenschr.*, 1893, n° 28).

II. — EXAMEN DES PRINCIPALES MANIFESTATIONS LOCALES DES MALADIES INFECTIEUSES.

1° Appareil digestif.

Angines. — On a rencontré un grand nombre d'espèces pathogènes dans les angines de diverse nature, pseudo-membraneuses ou non, diphtériques ou non. L'examen bactériologique est surtout important au point de vue de la diphtérie; de nombreux détails ont été donnés à ce sujet page 617 et suivantes.

Liste des espèces pathogènes ou suspectes trouvées dans les angines.

Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque pyogène.
Coccus Brisou.
Tétragène.
Pneumocoque (Weinberg) (1).
Proteus vulgaris.
— *mirabilis.*
Colibacille (Blasi et Russo-Travali).
Pneumobacille de Friedlaender (Hébert) (2).
Bacille diphtérique.
— fusiforme de Vincent.
— de Nicolas (p. 600).
— pseudo-diphtérique.
— de la diphtérie aviaire.
Spirilles divers.
Anaérobies divers (angine gangreneuse, Kossel).
Leptothrix buccalis.
Cladothrix divers.
Muguet (Teissier, de Stoecklin).
Levures (Troisier et Achalme).

Parotidites. — C'est surtout le Staphylocoque doré qui se rencontre le plus fréquemment (3), exceptionnellement le Colibacille, le Pneumobacille de Friedlaender, le Pneumocoque, le Bacille typhique, le Gonocoque.

Gastrites. — Très peu d'acquis au point de vue bactériologique actuellement.

Entérites. — L'examen du contenu intestinal porte sur les selles émises, pendant la vie. A l'autopsie, on peut en prélever dans les différents segments de l'intestin. A cause de la richesse de ce contenu en microbes (p. 1149), il est nécessaire, pour les cultures, de pousser loin la dilution. C'est certainement le *Colibacille* et les espèces voisines qui dominent dans toute la pathologie intestinale.

(1) Mlle Weinberg, De l'angine à Pneumocoques. Thèse de Paris, 1895.
(2) Hébert, Recherches cliniques et bactériologiques sur les angines à Bacille de Friedlaender. Thèse de Paris, 1896.
(3) Haushalter et Étienne, Parotidites à Staphylocoques (*Revue méd. de l'Est*, 1894).

Liste des espèces pathogènes trouvées dans le contenu intestinal à l'état pathologique.

Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque d'Escherich.
Entérocoque.
Streptocoque pyogène.
Pneumocoque.
Colibacille.
Bacille typhique.
Bacillus lactis aerogenes.
— *enteritidis sporogenes.*
— *botulinus.*
— *enteriditis.*
Pneumobacille de Friedlaender.
Bacille de la diarrhée verte.
— de la dysenterie.
— pyocyanique.
— de la tuberculose.
— du tétanos.
— typhique.
Vibrion septique.
Proteus vulgaris.
Spirille du choléra.
— de Finckler.
Spirilles cholérigènes.
Amibes (Kartulis, Kruse et Pasquale).
Muguet.

Péritonites. — Les espèces que l'on rencontre proviennent le plus souvent de l'intestin; elles arrivent dans le péritoine soit à la suite d'une perforation intestinale, soit après avoir traversé les parois intestinales altérées.

Liste des espèces rencontrées.

Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque pyogène (péritonite puerpérale, Dolcris, Widal; péritonite de l'érysipèle, Achalme).
Gonocoque (Charrier, Thèse de Paris, 1892).
Pneumocoque (Charrin et Veillon).
Bacille de la tuberculose.
Colibacille (p. 738).
Bacille typhique.
Bacillus lactis aerogenes.
Proteus vulgaris (Flexner).
Vibrion septique (douteux).

Affections du foie. — Les microbes pathogènes qui interviennent peuvent provenir de la circulation générale ou de la cavité intestinale. Ils déterminent des angiocholites et cholécystites, des abcès, des ictères infectieux.

Liste des espèces rencontrées.

Staphylocoque doré.
— blanc.

Micrococcus pyogenes citreus.
Pneumocoque.
Tétragène.
Colibacille.
Bacille typhique.
Pneumobacille de Friedlaender.
Bacille de la dysenterie épidémique.
— de la tuberculose.
— de la morve.
Spirille du choléra (Girode).
Amibes (Kartulis).

2° Appareil respiratoire.

Laryngites. — On y trouve les mêmes espèces que celles signalées dans les angines. Les recherches les plus importantes sont celles du *Bacille de la diphtérie* et du *Bacille de la tuberculose.*

Bronchites. — On y signale surtout les espèces suivantes :

Staphylocoque pyogène.
Streptocoque pyogène.
Tétragène.
Pneumocoque.
Colibacille.
Bacille de l'influenza.
— de la morve.
— de la diphtérie.

Broncho-pneumonies. — Dans les broncho-pneumonies primitives, on trouve les microbes suivants :

Streptocoque pyogène.
Pneumocoque.
Pneumobacille de Friedlaender.
Staphylocoque doré ou blanc (plus rare).

Dans les broncho-pneumonies secondaires (1), on peut rencontrer le microbe spécifique ; en plus des précédents, on a trouvé les suivants :

Bacille typhique.
— de l'influenza.
— de la diphtérie.
— du charbon (maladie des trieurs de laine, p. 498).
— pyocyanique.
Colibacille.
Entérocoque.

Pneumonie. — Les crachats de pneumoniques renferment surtout le Pneumocoque, quelquefois le Pneumobacille de Friedlaender. L'examen doit être pratiqué au moment de l'acmé. Les infections secondaires sont surtout causées par le Streptocoque pyogène, le Staphylocoque doré, le Bacille typhique, le Bacille de la diphtérie, le Bacille de la peste.

Tuberculose pulmonaire. — Des détails suffisants ont été donnés à propos du Bacille de la tuberculose (p. 532).

Pleurésies. — On se procure de l'exsudat à l'aide d'une ponction explo-

(1) G. Rosenthal, Recherches bactériologiques et cliniques sur quelques cas de broncho-pneumonie aiguë. Thèse de Paris, 1900.

ratrice que l'on peut faire avec une seringue stérilisée, après avoir désinfecté la peau à l'endroit où l'on veut opérer. A l'autopsie, on le recueille avec les précautions antiseptiques voulues. L'épanchement peut être séro-fibrineux, purulent ou hémorragique. Dans ce dernier cas, si l'affection est d'origine microbienne, elle relève le plus souvent du Bacille de la tuberculose. L'étude de l'exsudat doit comprendre des préparations microscopiques, des cultures, l'inoculation intrapéritonéale au cobaye.

Les microbes les plus communément rencontrés sont :

Streptocoque pyogène.
Pneumocoque.

Plus rarement on a pu constater les suivants :

Staphylocoque doré.
— blanc.
Bacille de la tuberculose.
— typhique (Fernet, Kelsch).
Colibacille.
Pneumobacille de Friedlaender (Netter, Letulle).
Proteus vulgaris.
Bacilles fluorescents.
Bacille de l'influenza (Pfeiffer).
Gonocoque (Bordoni-Uffreduzzi et Mazzà).
Tétragène.
Vibrion septique.
Proteus vulgaris.

3° Appareil circulatoire.

Péricardites. — L'exsudat est recueilli par paracentèse ou à l'autopsie. On y a rencontré les espèces suivantes :

Staphylocoque doré.
Streptocoque pyogène.
Tétragène.
Pneumocoque.
Colibacille.
Bacille de la tuberculose.
Pneumobacille de Friedlaender (Haushalter et Étienne).
Bacille pyocyanique (Ernst).
— du rhumatisme.

Endocardites. — Les microbes à incriminer se trouvent dans le sang et dans les végétations. On a signalé surtout les suivants :

Streptocoque pyogène (le plus fréquent).
Staphylocoque doré.
Tétragène.
Pneumocoque.
Bacille de Gilbert et Lion.
Bacillus endocarditis griseus de Weichselbaum.
Bacille de la tuberculose.
— de la diphtérie.
— pseudo-diphtérique.
— de Gilbert et Lyon.
— typhique.

Colibacille.
Gonocoque (Wilms) (1).

Phlébites. — La phlébite puerpérale est due presque exclusivement aux Staphylocoques pyogènes ou au Streptocoque (Thèse de Widal). En dehors de cette variété, on a signalé, comme pouvant être incriminés, le Pneumocoque (Netter), le Bacille typhique (Vaquez, Haushalter), le Colibacille (Girode); on a rencontré aussi le Bacille de la tuberculose, le Gonocoque.

4° Organes génito-urinaires.

Néphrites et cystites. — Le rein peut être pris dans le cours de bien des maladies infectieuses; l'agent est alors celui de la maladie générale. Ou bien, il se produit une néphrite ascendante, le microbe pathogène venant de la vessie antérieurement atteinte (p. 869). Voy. plus haut : *Examen des urines*, p. 1156.

Liste des espèces rencontrées à l'état pathologique.

Staphylocoque doré.
— blanc.
Bacille du charbon.
— de la diphtérie.
Streptocoque pyogène.
Pneumocoque.
Bacille de la tuberculose.
Colibacille.
Bacille typhique.
Bacillus lactis aerogenes (Morelle).
Bacille de Clado.
— d'Albarran et Hallé.
— de Doyen.
Pneumobacille de Friedlaender.
Urobacillus de Krogius.
Proteus mirabilis.
— *Zenkeri.*
— *vulgaris.*
Gonocoque.
Levures et Blastomycètes divers.

Urétrites. — Des détails suffisants ont été donnés à propos du Gonocoque, p. 387. La distinction des espèces similaires qui peuvent se rencontrer dans l'urètre a été discutée pages 399 et suivantes. On peut rencontrer, en outre, comme agent principal ou secondaire, les :

Staphylocoque doré.
— blanc.
Colibacille.
Bacille de la tuberculose.

et peut-être d'autres signalées précédemment dans les cystites.

(1) Wilms, Endocarditis gonorrhoica (*Deutsche med. Wochenschr.*, 1893, n° 48).

5° Organes génitaux de l'homme.

Orchites et épididymites.

Bacille de la tuberculose.
— typhique.
Gonocoque.
Orchiocoque.
Pneumocoque.
Streptocoque.
Staphylocoques divers.

Prostatites.

Gonocoque.
Bacille de la tuberculose.

6° Organes génitaux de la femme.

Vaginites. — C'est le *Gonocoque* qui est de beaucoup le plus fréquent (126 fois sur 171 d'après Bosc).

Après viennent les espèces suivantes.

Streptocoque.
Staphylocoques divers.
Bacille de la tuberculose.
— de la diphtérie.
— du chancre mou.
Proteus vulgaris.
Leptothrix divers.
Blastomycètes divers.
Muguet.
Trichomonas vaginalis.

Vulvo-vaginites. — Chez les petites filles, elles sont le plus souvent dues au Gonocoque. On y a rencontré aussi le *Staphylocoque doré*, le *Staphylocoque blanc*, le *Streptocoque pyogène*, le *Bacille pseudo-diphtérique*, le *Bacille pseudo-diphtérique en massue* de Weeks (1), le *Muguet.*

Endométrites. — En dehors de l'état puerpéral, le *Gonocoque* est de beaucoup le plus fréquent. Bien après viennent les *Staphylocoques doré* et *blanc*, le *Streptocoque pyogène*, le *Bacille de la tuberculose*, le *Bacille de la diphtérie.* Dans l'infection puerpérale, c'est le *Streptocoque pyogène* qui cause toujours cette manifestation.

Salpingites. — La salpingite catarrhale est amicrobienne (Hartmann et Morax). La salpingite suppurée peut être produite par les microbes suivants, seuls ou en association :

Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque pyogène.
Gonocoque.
Pneumocoque.
Bacille de la tuberculose (Delbet, Stemann).
— typhique.
Colibacille.
Proteus vulgaris.
Actinomyces.
Hématozoaire de Laveran.

(1) Veillon et Hallé, *Arch. de méd. expér.*, 1896.

Infection puerpérale. — Le plus ordinairement, elle relève du Streptocoque pyogène (Widal, *loc. cit.*, p. 349) seul ou en association avec les Staphylocoques pyogènes, le Bacille de la diphtérie (Widal). On donne, en outre, comme agents microbiens capables de déterminer des septicémies puerpérales, le Staphylocoque doré, le Staphylocoque blanc, le Colibacille, le Pneumocoque [Czemetscha (1), Schuhl, A. Herrgott], le Vibrion septique, le Pneumobacille, le Bacille typhique, le *Proteus vulgaris* (2).

La *phlegmatia alba dolens* est sous la dépendance des mêmes espèces ; ont été aussi signalées comme pouvant produire cette manifestation, le Bacille de la tuberculose (Vaquez), le Bacille typhique (Haushalter, *Revue médicale de l'Est*, 1er septembre 1893).

Éclampsie. — Blanc incrimine un Bacille qu'il a isolé de l'urine d'éclamptiques (p. 870). Gerdes (3) a obtenu, de cultures d'organes, une Bactérie ovoïde assez semblable à celle du choléra des poules. D'autres n'ont rencontré que le Staphylocoque doré et le Staphylocoque blanc.

7° Système nerveux.

Méningites. — L'exsudat, le plus souvent purulent, a donné les espèces suivantes :

Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque pyogène.
Pneumocoque (27 fois sur 41 méningites suppurées, d'après Netter).
Gonocoque.
Méningocoque.
Bacille de la tuberculose
— de l'influenza.
— du rhumatisme.
— typhique.
Colibacille.
Pneumobacille de Friedlaender.
Cladothrix divers.
Actinomyces (4).
Tétragène.

8° Organes des sens.

Œil. — *Conjonctivites et ophtalmies.*

Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque pyogène.
Pneumocoque.
Gonocoque.
Tétragène.
Micrococcus subflavus.

(1) Czemetscha, *Prager med. Wochenschr.*, 1894, n° 19, p. 233.
(2) Vesque, Thèse de Nancy, 1899.
(3) Gerdes, *Centralbl. für Gynæk.*, 1892.
(4) Job, De l'actinomycose des centres nerveux. Thèse de Lyon, 1896.

Bacille de la morve.
— de la lèpre.
— du charbon.
— de la diphtérie.
— pseudo-diphtérique.
— de la conjonctivite aiguë.
— de la conjonctivite chronique.
Colibacille.
Bacille de l'ozène.
Pneumobacille de Friedlaender.
Bacille pyocyanique.
— de la tuberculose.
Cladothrix divers (1).
Aspergillus divers.

Oreille (2). — Les microorganismes signalés dans les différentes *otites* appartiennent aux nombreuses espèces suivantes :

Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque pyogène (surtout complications secondaires de beaucoup d'infections).
Pneumocoque.
Tétragène.
Gonocoque.
Méningocoque.
Bacille de la diphtérie.
— pseudo-diphtérique.
— de l'influenza.
— de la tuberculose.
Pneumobacille de Friedlaender.
Colibacille.
Bacille pyocyanique.
Proteus vulgaris.
Muguet.
Mucor divers.
Penicillium divers.
Aspergillus divers (3).

Nez.

Streptocoque.
Pneumocoque.
Staphylocoques.
Tétragène.
Gonocoque.
Bacille de l'ozène.
— du rhinosclérome.
— de la tuberculose.
— de la diphtérie.
— de la morve
— typhique.
Colibacille.
Pneumobacille.
Spirilles du mucus nasal.

(1) Gombert, Thèse de Montpellier, 1889. — Dubois Saint-Sévrin et Mercier, *Sem. méd.*, 1895, p. 202.

(2) Martha, Les microbes de l'oreille. Thèse de Paris, 1893. — De Crevoisier, Rôle des microorganismes dans les otites moyennes purulentes. Thèse de Paris, 1892. — Voy. pour la statistique des différentes espèces : Étienne, Le Pneumobacille de Friedlaender (*Arch. de méd. expér.*, 1895). — Rist, Infections d'origine otique. Thèse de Paris, 1898.

(3) Dubreuihl, *Arch. de méd. expér.*, 1891, p. 566.

9° Rhumatisme et arthrites.

Bacille du rhumatisme.
— de la tuberculose.
Colibacille.
Staphylocoque doré.
— blanc.
Streptocoque pyogène.
Pneumocoque.
Gonocoque (1).
Méningocoque.

10° Peau.

Érysipèle.

Streptocoque pyogène.
Staphylocoques (Bordoni-Uffreduzzi).
Bacille typhique (Rheiner).
Mucédinées (Achalme) (2).

Lymphangites.

Streptocoque.
Staphylocoques.
Pneumocoque.
Bacille typhique.
Colibacille.
Bacille de la morve.
Cladothrix farcinica.
Gonocoque.
Blastomycètes divers.

Autres manifestations cutanées.

Staphylocoque pyogène doré.
Streptocoque pyogène.
Microbe de la séborrhée de Sabouraud.
Bacille de la diphtérie.
— du smegma.
— de Lustgarten.
— du chancre mou.
— pyocyanique.
Micrococcus du clou de Biskra.
Bacille de la tuberculose.
— de la lèpre.
— typhique (sueurs, Sudakoff).
— saprogène de Rosenbach (sueur fétide des pieds).
Micrococcus hæmatodes.
Actinomyces.
Cladothrix de Madura.
Aspergillus divers.
Achorion Schönleinii.
Trichophytons divers.
Oïdium divers.
Blastomycètes divers.

(1) Haushalter, *Arch. clin. de Bordeaux*, 1895.
(2) Achalme, L'érysipèle et ses complications. Thèse de Paris, 1892. — *Id.*, L'érysipèle. Bibliothèque Charcot-Debove.

FIN.

ERRATA

Page 9, ligne 34, *lire* Miller *au lieu de* Giller.
— 17, — 7, — Sternberg — Steinberg.
La page 623 a été marquée 620.

ADDENDA.

Méthode de Van Ermenghem pour la coloration des cils, p. 311, compléter de la façon suivante :

Après l'action du bain réducteur, repasser les préparations dans la solution argentique, en agitant constamment, jusqu'à ce que la solution se mette à noircir on arrête et on lave à l'eau distillée.

TABLE DES FIGURES

FIN DE LA TABLE DES FIGURES.

TABLE DES MATIÈRES

DEUXIÈME PARTIE

TECHNIQUE BACTÉRIOLOGIQUE.

TROISIÈME PARTIE

CLASSIFICATION ET DESCRIPTION.

(1) On trouvera l'énumération des espèces, p. 1188 et 1189.

QUATRIÈME PARTIE

ÉTUDE SPÉCIALE DES PRINCIPAUX MILIEUX.

(1) On trouvera l'énumération des espèces à la table alphabétique, p. 1181 et 1182.

INDEX ALPHABÉTIQUE

D

E

F

G

N

R



FIN DE L'INDEX ALPHABÉTIQUE.

7272-99. — Corbeil. Imprimerie Éd. Crété.

Traité de Médecine et de Thérapeutique — Liste des Collaborateurs

ACHARD........	prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpital Tenon.
AUCHÉ........	prof. agrégé à la Faculté de Bordeaux, méd. des hôpitaux.
BALLET (Gilbert)..	prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin de Saint-Antoine.
BALZER..........	médecin de l'hôpital Saint-Louis.
BARBE..........	chef du laboratoire de dermatologie à l'hôpital Saint-Antoine.
BARBIER........	médecin des hôpitaux de Paris.
BARTH..........	médecin de l'hôpital Necker.
BOINET.........	professeur à l'École de Marseille, médecin des hôpitaux.
BOULLOCHE....	médecin des hôpitaux de Paris.
BOURNEVILLE.	médecin de l'hospice de Bicêtre.
BROUARDEL....	doyen de la Faculté de méd. de Paris, membre de l'Institut.
CARNOT........	docteur ès sciences, ancien interne des hôpitaux de Paris.
CARTAZ.........	ancien interne des hôpitaux de Paris.
CASTEX.........	chargé du cours de laryngologie à la Faculté de Paris.
CHAUFFARD (A.)	prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpital Cochin.
CLAISSE.........	médecin des hôpitaux de Paris.
COURMONT.....	professeur agrégé à la Faculté de Lyon, médecin des hôpitaux.
DE GENNES.....	médecin des hôpitaux de Paris.
DEJÉRINE......	prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin de la Salpétrière.
DESCHAMPS....	ancien chef de clinique à la Faculté de Paris.
DUPRÉ..........	professeur agrégé à la Faculté de Paris.
GALLIARD......	médecin de l'hôpital Saint-Antoine.
GAUCHER.......	prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpital St-Antoine.
GILBERT........	prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpital Broussais.
GILLES de la TOURETTE	prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin de Saint-Antoine.
GOMBAULT (A.)	médecin de l'hospice d'Ivry.
GRANCHER.....	professeur à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpit. des Enfants.
GUINON (L.).....	médecin des hôpitaux de Paris.
HALLOPEAU....	prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de Saint-Louis.
HAYEM..........	professeur de clinique médicale à la Faculté de Paris.
HUTINEL........	prof. à la Fac. de Paris, méd. de l'hospice des Enfants-Assistés.
JACQUET.......	médecin des hôpitaux de Paris.
JEANSELME....	médecin des hôpitaux de Paris.
KLIPPEL........	médecin des hôpitaux de Paris.
LABOULBÈNE...	prof. à la Fac. de Paris, membre de l'Académie de médecine.
LANCEREAUX...	prof. agrégé à la Fac, de Paris. membre de l'Ac. de médecine.
LANDOUZY (L.).	prof. de thérapeutique à la Faculté de Paris, méd. de Laënnec.
LAUNOIS........	prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin des hôpitaux.
LAVERAN.......	prof. à l'École du Val-de-Grâce, m. de l'Ac. de médecine.
LENOIR.........	médecin des hôpitaux de Paris.
LETULLE........	prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpital Boucicaut.
LION............	médecin des hôpitaux de Paris.
MARFAN.........	prof. agrégé à la Fac. de Paris, méd. de l'hosp. des Ménages.
MARIE..........	prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin des hôpitaux.
MENETRIER....	prof. agrégé à la Fac. de Paris, médecin des hôpitaux.
MERKLEN.......	médecin de l'hôpital Laënnec.
MÉRY...........	prof. agr. à la Fac. de Paris, médecin des hôpitaux de Paris.
MOSNY..........	médecin des hôpitaux de Paris.
MOTET.........	membre de l'Académie de médecine.
NETTER.........	prof. agrégé à la Fac. de Paris, méd. de l'hôpital Trousseau.
PARMENTIER...	médecin des hôpitaux de Paris.
PITRES.........	professeur à la Faculté de médecine de Bordeaux.
RAYMOND......	prof. de clinique des maladies nerveuses.
RICHARDIÈRE..	médecin de l'hôpital Trousseau.
ROGER.........	prof. agrégé à la Fac. de Paris, méd. de l'hôp. d'Aubervilliers.
ROQUE.........	prof. agrégé à la Faculté de Lyon, méd. des hôpitaux.
SIREDEY (A.)...	médecin de l'hôpital Saint-Antoine.
SURMONT.......	professeur à la Faculté de Lille.
TEISSIER (J.)...	prof. à la Faculté de Lyon, médecin des hôpitaux.
THOINOT........	prof. agrégé à la Fac. de Paris, méd. de l'hôp. Debrousse.
TRIBOULET....	médecin des hôpitaux de Paris.
VAILLARD......	professeur à l'École militaire du Val-de-Grâce.
WIDAL..........	prof. agrégé à la Fac. de Paris, méd. de la Maison de Santé
WURTZ (R.).....	prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin des hôpitaux.

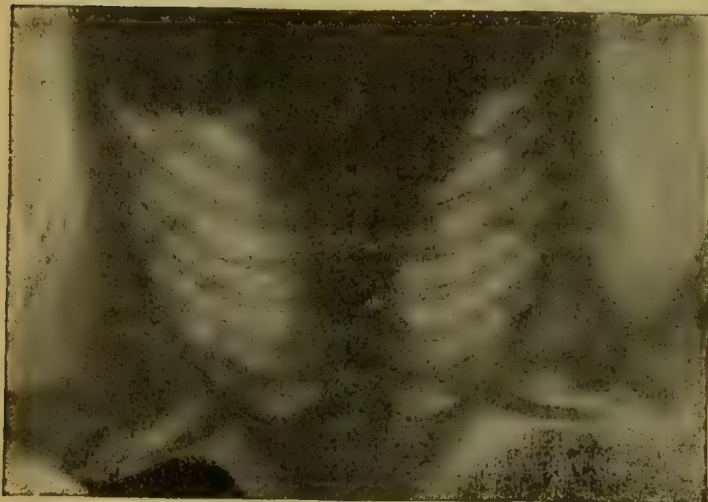


Figure de BÉCLÈRE.
Les Rayons Rontgen et le Diagnostic de la Tuberculose.

LES

Actualités Médicales

COLLABORATEURS

BARBIER, BÉCLÈRE, BOUFFE DE SAINT-BLAISE
BRAQUEHAYE, BROCA, CARNOT
CLAUDE, COURMONT, COYON, DOR, DOYON
GALLIARD, GAREL, GILLES DE LA TOURETTE
GRASSET, LÉPINE, LIPPMANN
PAUCHET, REGNIER, ROQUE, ROUX, TEISSIER
TERRIEN, TRIBOULET, ULMANN

Nouvelle Collection de volumes in-16 carré de 96 pages, avec figures, cartonnés, à 1 fr. 50

Il parait un volume par mois. — Souscription à 12 volumes, cartonnés, **16** *fr.*

L'Appendicite, par le Dr BROCA, professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux de Paris 1900, 1 vol. in-16, cartonné........ 1 fr. 50

Anatomie clinique des Centres nerveux, par le Dr GRASSET, professeur à la Faculté de Médecine de Montpellier. 1900, 1 vol. in-16, cart........ 1 fr. 50

Diagnostic des Maladies de la Moelle, par le Dr GRASSET. 1899, 1 vol. in-16, cart. 1 fr. 50

Cancer et Tuberculose, par le Dr CLAUDE, ancien interne lauréat des hôpitaux de Paris. 1900, 1 vol. in-16, cart........ 1 fr. 50

La Radiographie et la Radioscopie cliniques, par le Dr RÉGNIER, chef du Laboratoire de radiographie de la Charité. 1898, 1 vol. in-16, cart........ 1 fr. 50

La Mécanothérapie, par le Dr RÉGNIER. 1900. 1 vol. in-16, cart........ 1 fr. 50

Les Rayons Röntgen et le Diagnostic de la Tuberculose, par le Dr BÉCLÈRE, médecin de l'hôpital Saint-Antoine. 1899, 1 vol. in-16, cart........ 1 fr. 50

La Diphtérie. *Nouvelles recherches bactériologiques et cliniques, prophylaxie et traitement,* par le Dr H. BARBIER, médecin des hôpitaux de Paris, et le Dr G. ULMANN, ancien interne des hôpitaux. 1899, 1 vol. in-16, cart........ 1 fr. 50

La Grippe, par le Dr L. GALLIARD, médecin de l'hôpital Saint-Antoine. 1898, 1 vol. in-16, cartonné........ 1 fr. 50

Les États Neurasthéniques, par le Dr GILLES DE LA TOURETTE, professeur agrégé à la Faculté de Paris, médecin de l'hôpital Saint-Antoine, médecin en chef de l'Exposition de 1900, 2e *édition.* 1900, 1 vol. in-16, cart. 1 fr. 50

Les Myélites Syphilitiques, par le Dr GILLES DE LA TOURETTE. 1899, 1 vol. in-16, cartonné........ 1 fr. 50

Psychologie de l'Instinct sexuel, par Joanny ROUX, médecin des hôpitaux de Saint-Étienne. 1 vol. in-16, cart........ 1 fr. 50

Les Glycosuries non diabétiques, par le Dr ROQUE, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Lyon. 1 vol. in-16, cart. 1 fr. 50

Thérapeutique oculaire, par le Dr F. TERRIEN, chef de clinique ophtalmologique de la Faculté de médecine de Paris. 1899, 1 vol. in-16, cart........ 1 fr. 50

Le Diabète, par le Dr R. LÉPINE, professeur à la Faculté de médecine de Lyon, médecin des hôpitaux de Lyon. 1899, 1 vol. in-16.. 1 fr. 50

Les Albuminuries curables, par le Dr J. TEISSIER, professeur à la Faculté de médecine de Lyon. 1900, 1 vol. in-16, cart...... 1 fr. 50

Les Régénérations d'Organes, par le Dr P. CARNOT, docteur ès sciences, ancien interne des hôpitaux de Paris. 1899, 1 vol. in-16, cartonné........ 1 fr. 50

Le Tétanos, par les Drs J. COURMONT et M. DOYON, professeurs agrégés à la Faculté de médecine de Lyon. 1899, 1 vol. in-16, cartonné.. 1 fr. 50

Les Auto-Intoxications de la Grossesse, par le Dr BOUFFE DE SAINT BLAISE, accoucheur des hôpitaux de Paris. 1899, 1 vol. in-16, cartonné........ 1 fr. 50

Le Rhume des Foins, par le Dr GAREL, médecin des hôpitaux de Lyon. 1899, 1 vol. in-16. cartonné........ 1 fr. 50

La Fatigue oculaire et le Surmenage visuel, par le Dr DOR, chef de laboratoire à la Faculté de Lyon. 1900, 1 vol. in-16, cart. 1 fr. 50

La Gastrostomie, par le Dr BRAQUEHAYE, agrégé à la Faculté de médecine de Bordeaux, 1899, 1 vol. in-16, cart........ 1 fr. 50

Le Pneumocoque, par LIPPMANN, interne des hôpitaux de Paris. Préface du Dr DUFLOCQ, médecin des hôpitaux. 1900, 1 vol. in-16. 1 fr. 50

Le Rhumatisme articulaire aigu en bactériologie, par le Dr H. TRIBOULET, médecin des hôpitaux, et A. COYON interne des hôpitaux 1900, 1 vol. in-16, cartonné........ 1 fr. 50

Chirurgie des Voies biliaires, par le Dr PAUCHET, ancien interne lauréat des hôpitaux de Paris. 1900, 1 vol. in-16, cart. 1 fr. 50

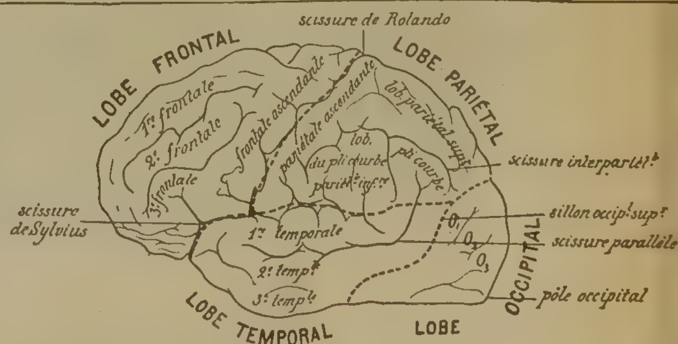


Figure de GRASSET. — *Anatomie clinique des Centres nerveux.*

Corbeil. — Imp. Ed. CRÉTÉ.

postérieur, et c'est en arrière du thorax, à la hauteur des sixième, septième et huitième vertèbres dorsales, dans l'espace compris d'une part entre le rachis et le bord spinal de l'omoplate gauche, d'autre part entre deux lignes horizontales passant par l'épine de l'omoplate et l'angle inférieur de cet os, qu'il faut rechercher les variations de sa matité. A l'état normal, LA PERCUSSION DE L'OREILLETTE GAUCHE faite d'après les règles formulées par Germe et récemment précisées par Machado (1), dans une thèse inspirée par Potain, donne une zone

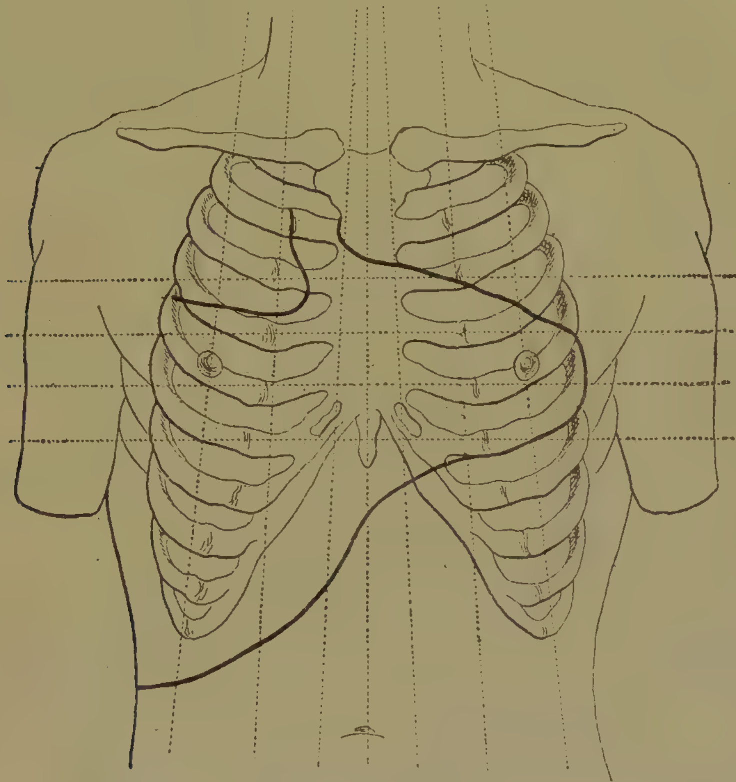


Fig. 10. — Myocardite chronique et dilatation de l'aorte. Asystolie. Grande maitét cardio-hépatique.

de submatité ovalaire dont le diamètre horizontal mesure 3 centimètres au niveau de sa plus grande largeur, le diamètre vertical 78 millimètres. Cette submatité augmente dans l'insuffisance et surtout dans le rétrécissement de l'orifice mitral quand la stase auriculaire est très prononcée; elle s'accroît en dehors et en bas, atteignant quelquefois la neuvième et dixième vertèbre dorsale; la largeur de l'ovale s'élève jusqu'à 64 millimètres et sa longueur à 411 millimètres dans les grandes dilatations de l'oreillette (Machado).

PHONENDOSCOPIE ET RADIOGRAPHIE. — Ces deux procédés d'examen peuvent confirmer en les précisant les résultats de la

(1) MACHADO, De la valeur séméiologique de la percussion de l'oreillette gauche Th. de doct., Paris, 1897.

Traité de Médecine et de Thérapeutique

Liste des Collaborateurs

ACHARD .... prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpital Tenon.
AUCHÉ .... prof. agrégé à la Faculté de Bordeaux, méd. des hôpitaux.
BALLET (Gilbert).. prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin de Saint-Antoine.
BALZER .... médecin de l'hôpital Saint-Louis.
BARBE .... chef du laboratoire de dermatologie à l'hôpital Saint-Antoine.
BARBIER .... médecin des hôpitaux de Paris.
BARTH .... médecin de l'hôpital Necker.
BOINET .... professeur à l'École de Marseille, médecin des hôpitaux.
BOULLOCHE .... médecin des hôpitaux de Paris.
BOURNEVILLE. médecin de l'hospice de Bicêtre.
BROUARDEL .... doyen de la Faculté de méd. de Paris, membre de l'Institut.
CARNOT .... docteur ès sciences, ancien interne des hôpitaux de Paris.
CARTAZ .... ancien interne des hôpitaux de Paris.
CASTEX .... chargé du cours de laryngologie à la Faculté de Paris.
CHAUFFARD (A.) prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpital Cochin.
CLAISSE .... médecin des hôpitaux de Paris.
COURMONT ..... professeur agrégé à la Faculté de Lyon, médecin des hôpitaux.
DE GENNES ..... médecin des hôpitaux de Paris.
DEJÉRINE ...... prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin de la Salpétrière.
DESCHAMPS .... ancien chef de clinique à la Faculté de Paris.
DUPRÉ .... professeur agrégé à la Faculté de Paris.
GALLIARD ...... médecin de l'hôpital Saint-Antoine.
GAUCHER .... prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpital St-Antoine.
GILBERT .... prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpital Broussais.
GILLES de la TOURETTE prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin de Saint-Antoine.
GOMBAULT (A.) médecin de l'hospice d'Ivry.
GRANCHER ..... professeur à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpit. des Enfants.
GUINON (L.) ..... médecin des hôpitaux de Paris.
HALLOPEAU .... prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de Saint-Louis.
HAYEM .... professeur de clinique médicale à la Faculté de Paris.
HUTINEL .... prof. à la Fac. de Paris, méd. de l'hospice des Enfants-Assistés.
JACQUET .... médecin des hôpitaux de Paris.
JEANSELME .... médecin des hôpitaux de Paris.
KLIPPEL .... médecin des hôpitaux de Paris.
LABOULBÈNE... prof. à la Fac. de Paris, membre de l'Académie de médecine.
LANCEREAUX... prof. agrégé à la Fac, de Paris. membre de l'Ac. de médecine.
LANDOUZY (L.). prof. de thérapeutique à la Faculté de Paris, méd. de Laënnec.
LAUNOIS ...... prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin des hôpitaux.
LAVERAN .... prof. à l'École du Val-de-Grâce, m. de l'Ac. de médecine.
LENOIR .... médecin des hôpitaux de Paris.
LETULLE .... prof. agrégé à la Faculté de Paris, méd. de l'hôpital Boucicaut.
LION .... médecin des hôpitaux de Paris.
MARFAN .... prof. agrégé à la Fac. de Paris, méd. de l'hosp. des Ménages.
MARIE .... prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin des hôpitaux.
MENETRIER .... prof. agrégé à la Fac. de Paris, médecin des hôpitaux.
MERKLEN .... médecin de l'hôpital Laënnec.
MERY .... prof. agr. à la Fac. de Paris, médecin des hôpitaux de Paris.
MOSNY .... médecin des hôpitaux de Paris.
MOTET .... membre de l'Académie de médecine.
NETTER .... prof. agrégé à la Fac. de Paris, méd. de l'hôpital Trousseau.
PARMENTIER... médecin des hôpitaux de Paris.
PITRES .... professeur à la Faculté de médecine de Bordeaux.
RAYMOND ...... prof. de clinique des maladies nerveuses.
RICHARDIÈRE.. médecin de l'hôpital Trousseau.
ROGER .... prof. agrégé à la Fac. de Paris, méd. de l'hôp. d'Aubervilliers.
ROQUE .... prof. agrégé à la Faculté de Lyon, méd. des hôpitaux.
SIREDEY (A.)... médecin de l'hôpital Saint-Antoine.
SURMONT .... professeur à la Faculté de Lille.
TEISSIER (J.)... prof. à la Faculté de Lyon, médecin des hôpitaux.
THOINOT .... prof. agrégé à la Fac. de Paris, méd. de l'hôp. Debrousse.
TRIBOULET .... médecin des hôpitaux de Paris.
VAILLARD ...... professeur à l'École militaire du Val-de-Grâce.
WIDAL .... prof. agrégé à la Fac. de Paris, méd. de la Maison de Santé
WURTZ (R.) ..... prof. agrégé à la Faculté de Paris, médecin des hôpitaux

Corbeil. Imprimerie Éd. Crété. JUILLET 1900

Traité de Chirurgie clinique et opératoire

Opinion de la presse

LA PRESSE MÉDICALE

Les traités succèdent aux traités, en chirurgie comme en médecine; le dernier paru, sous la direction de MM. Le Dentu et Delbet, contient nombre d'idées nouvelles qui le feront rechercher et même préférer des jeunes.

Chaque volume contient l'exposé de toutes les recherches récentes, et rompant, en bien des points, avec les idées classiques, les auteurs ont cherché à faire une œuvre qui, dans son ensemble, soit originale et en rapport avec les idées inspirées par la bactériologie et l'histologie.

Chacun y puisera d'excellents renseignements.

JOURNAL DES PRATICIENS

Le souci des indications et des procédés thérapeutiques, qui est une des caractéristiques de ce traité, se retrouve à un haut degré dans chaque volume. Les auteurs ont su échapper à cette tendance si fréquente à passer sous silence, à supposer connus les détails techniques relatifs aux appareils, aux interventions. C'est là un mérite très réel.

LA FRANCE MÉDICALE

Le *Traité de chirurgie clinique et opératoire* continue sa marche triomphale. Les derniers volumes s'avancent de pair avec ceux qui les ont précédé. Il est difficile de trouver une série d'articles plus complètement et plus exactement étudiés. Le choix des auteurs seul indique avec quel soin est dirigé ce *traité pratique* et nous ne pouvons douter qu'il continuera à tenir les promesses qui nous sont données par les premiers volumes.

BULLETIN MÉDICAL

Conserver à un traité, dont la rédaction comprend de très nombreux collaborateurs, son unité d'allures, n'était pas chose facile, et cependant les nouveaux volumes que viennent de publier MM. Le Dentu et Delbet ont gardé le caractère pratique qui, dès le début, a fait le succès de leur œuvre.

REVUE DES SCIENCES MÉDICALES

Les Traités de Chirurgie se succèdent et l'on serait volontiers surpris de voir le succès qui a accueilli celui de MM. Le Dentu et Delbet, si l'on ne songeait qu'aucun de ceux parus jusqu'à ce jour ne forme un tout complet, qu'aucun n'est dans toutes ses parties recommandable.

Dans le *Traité de Chirurgie*, édité par J.-B. Baillière, le même plan a été unanimement suivi. C'est le point de vue clinique et thérapeutique qui a été l'unique préoccupation des auteurs.

GAZETTE DES HOPITAUX

Dans le nouveau *Traité de Chirurgie*, le côté clinique occupe une grande place; la médecine opératoire elle-même est exposée, non pas avec les minutieux détails qu'on trouve dans les livres spéciaux, mais d'une manière suffisante pour qu'un praticien déjà exercé puisse exécuter, sans autre guide, une opération qu'il n'a pas encore pratiquée.

Dans toutes les questions, c'est la chirurgie d'aujourd'hui qui est exposée ; sans faire fi d'un passé qui a droit à tous les respects, les auteurs ont pensé qu'il ne fallait pas trop lui sacrifier; notamment l'historique est réduit aux grandes idées, qui ont une importance philosophique et que tout médecin instruit doit connaître. Par contre, les récentes conquêtes de la bactériologie sont signalées. MM. Le Dentu et Delbet voudraient que leur traité devienne « le livre de chevet de ceux qui se proposent d'être utiles à leurs malades ». Nous croyons qu'ils ont fait le nécessaire pour atteindre ce but.

de ce qu'enseigne l'anatomie normale (voir p. 275). C'est encore le doigt qui sera le meilleur guide, et une indication localisée dans la région du cholédoque pourra seule permettre, lorsqu'on le sentira nettement, de porter un diagnostic ferme.

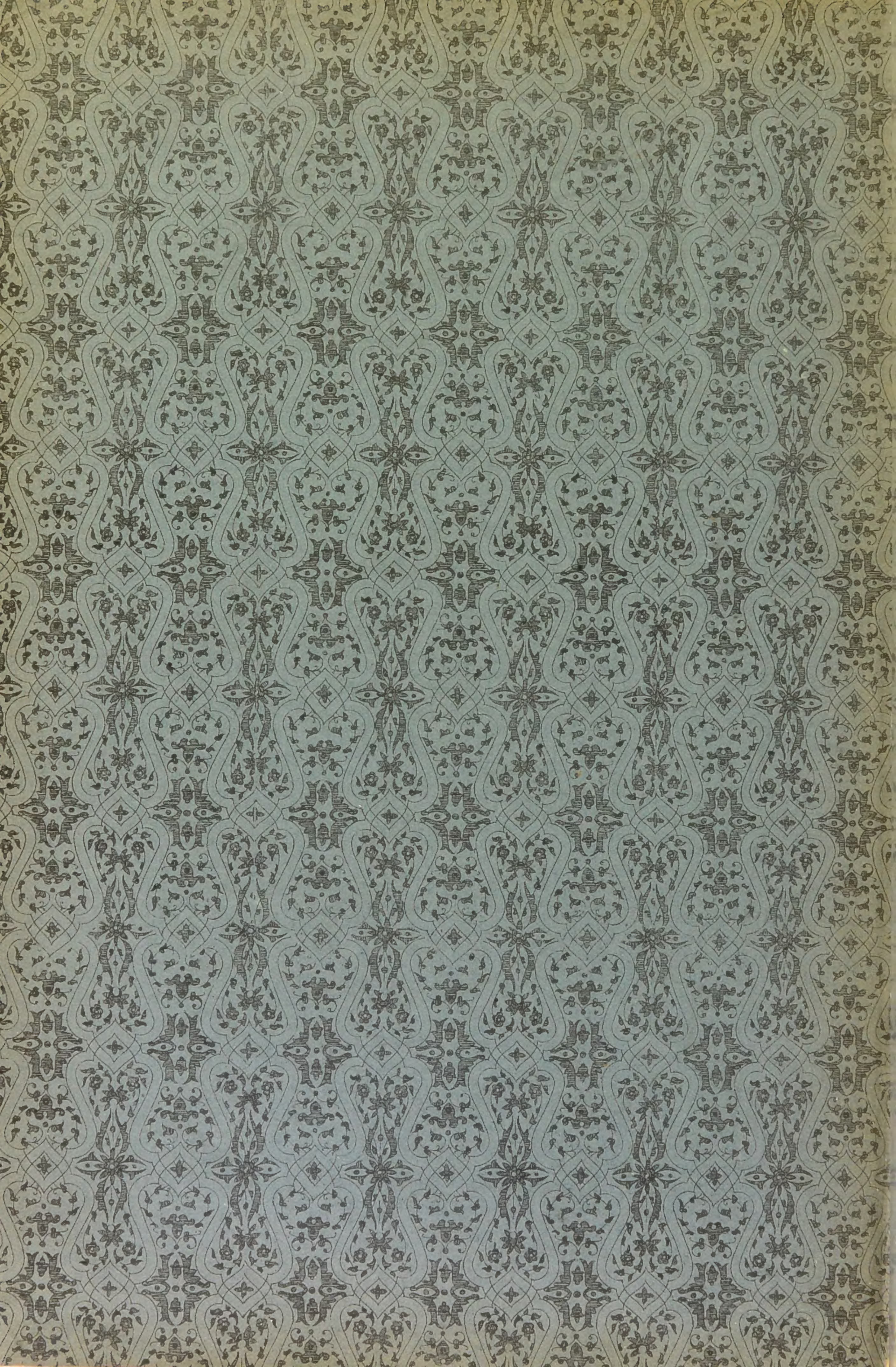
Encore faudra-t-il éviter de confondre cette induration avec un ganglion ou un néoplasme de petit volume.

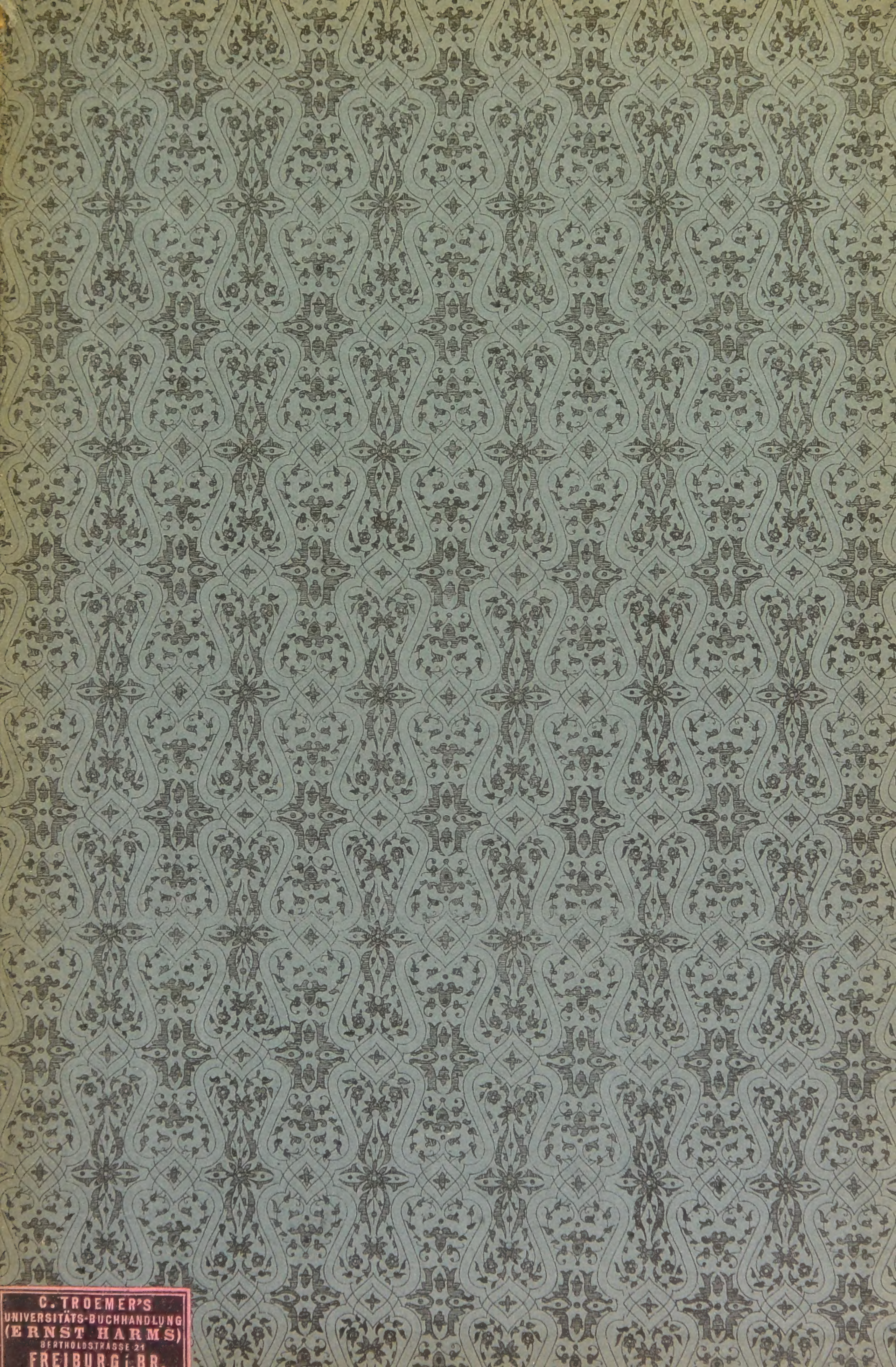
La ponction avec une aiguille, en permettant de sentir le calcul, donnera une certitude complète.



Fig. 37. — Cholectocotomie. — Vue générale de l'opération : un écarteur soulève le foie. L'andra gauche engagé dans l'hiatus de Winslow et recourbé en crochet derrière l'épiploon gastro-hépatique, amène en avant cet épiploon et le duodénum. Dans l'épaisseur de cet épiploon sous son feuillet antérieur, on aperçoit en pointillé le canal optique et le canal cholédome dilaté. Un calcul rempli l'extrémité inférieure du cholédoque. L'incision destinée à l'extraire sera faite en I sur le calcul, au-dessus du duodénum, parallèlement au canal loin de la veine porte qui est située dans la profondeur derrière le canal. L'incision sera au besoin agrandie vers le bas en attirant le duodénum en bas et en dedans.

Lorsqu'on a acquis la conviction et, ce qui vaut mieux, la certitude de la présence d'un calcul dans le cholédoque, il faut inciser le canal. Lorsque le calcul siège dans la *portion sus-duodénale*, l'opération n'est pas trop difficile. La veine porte, on le sait, se trouve en arrière et à gauche du canal qui se trouve couché sur elle, à droite de l'artère hépatique ; or, comme on aborde le canal en avant et à droite,




C. TROEMER'S
UNIVERSITÄTS-BUCHHANDLUNG
(ERNST HARMS)
BERTHOLDSTRASSE 21
FREIBURG i. BR.